## INSTITUT رئازجل ا – شارحل اب ةي حالفل ا مول علل يموقل ا ده عمل NATIONAL AGRONOMIQUED'EL HARRACH- ALGER

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister Spécialité : Protection des Végétaux Option : zoo phytiatrie

Activité acaricide de quatre huiles essentielles sur Tetranychus cinnabarinus Boisduval 1867 (Acari ; Tetranychidae ) et contribution à l'étude de leur composition chimique par GC/MS

# Par Mme **DALILA SAHEB**

Directeur de thèse: MME H. BOULFEKHAR Chargée de cours Année universitaire 2006-2007

**JURY Président :** M. S.E. DOUMANDJI Professeur **Examinateurs :** MME B. DOUMANDJI Professeur MME F. MOUHOUCHE Maître de conférence M. A. MOUKABLI Maître de conférence

### Table des matières

Remerciements	5	
صځلم	6	
Résumé	7	
Abstract	8	
Introduction générale	9	
Partie I : Partie bibliographique	11	
I- Chapitre I : Synthèse bibliographique sur Tetranychus cinnabarinus		
I-1- Introduction	11	
I-2- CLASSIFICATION ET SYNONYMIE	11	
I-3 - REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET PLANTES HOTES	12	
I-4 - DESCRIPTION	12	
I-5 - BIOLOGIE	13	
I-6- LES DEGATS	17	
1-7- LA TOILE DE T. CINNABARINUS	18	
II- Chapitre II : Les huiles essentielles	19	
II-1-HISTORIQUE	19	
II-2 -DEFINITION	19	
II-3 - LOCALISATION DES HUILES ESSENTIELLES	20	
II-4 - SYNTHESE DES HUILES ESSENTIELLES	21	
II-5-ROLE DES HUILES ESSENTIELLES CHEZ LES PLANTES	24	
II-6- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES	25	
II-7- FACTEURS DE VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES	26	
III-Chapitre III Les huiles essentielles en tant que biopesticides	30	
III-I - INTRODUCTION	30	
III-2- ACTIVITE BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ET DE LEURS CONSTITUANTS	31	
III-3- IMPACT SUR L'ENVIRONNEMENT ET LA SANTE HUMAINE	34	
III-4- COMMERCIALISATION DES PESTICIDES A BASE D'HUILE ESSENTIELLE	35	
III-5- GENERALITES SUR LES PLANTES CHOISIES POUR NOS TESTS	35	
Partie II : Partie expérimentation	39	
I- Chapitre I : Essais biologiques	39	
I-I -OBJECTIF	39	
I-2-MATERIEL ET METHODES	39	
I-3 - RESULTATS	43	
I-4- DISCUSSION	60	
II- Chapitre II : Analyses des huiles essentielles étudiées par GC/MS	66	
II-1- INTRODUCTION	66	
II-2-ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES HUILES ESSENTIELLES	67	
II-3- RESULTATS ET DISCUSSION	69	

Conclusion générale	81
Références Bibliographiques	83

#### Remerciements

Je tiens sincèrement à remercier ma directrice de thèse, Mme BOULFEKHAR H., chargée de cours à l'institut national agronomique d'EL-HARRACH, d'avoir accepté de diriger mes travaux de recherche de thèse, pour ses conseils, sa patience, sa disponibilité, sa sympathie et son attitude positive et encourageante tout au long de ce travail. J'apprécie les longues heures qu'elle a passées à corriger les premières versions de cette thèse.

Je remercie également Monsieur DOUMANDJI S.E. Professeur à l'institut national agronomique d'EL-HARRACH de bien vouloir présider ce jury.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à Mme DOUMANDJI B. professeur à L'INA, ainsi qu'à Mme MOUHOUCHE F. et à Monsieur MOKABLI A. tous deux maîtres de conférence à L'INA, d' avoir accepté d' examiner et d'évaluer mon travail .

J'adresse mes vifs remerciements à Mr KHETTAR Directeur des Ressources Humaines à MOUBYDAL de m'avoir autorisée à travailler sur le GCMS du CRD ainsi que Mr ZEMOURI M..assistant Technique au CRD et Melle ZOUBIRI S. Ingénieur de Recherche Chimiste dans la même structure, de m'avoir assistée durant toute la manipulation sur le GCMS.

Je remercie mes amies Melle SETBEL Samira, Melle AOUDIA Wahiba, Melle BELKACEMI Kahina et mes collègues Melle ZOUBIRI Safia, Mme KIMOUCHE Nadia, Melle AIT ISSAD Nadia, Mlle AIT EL HOCINE Latifa et Mme AIT ALI Fatiha, pour leurs soutien constant, leurs conseils, et pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble.

### ص خلم

تمت دراسة التركيب الكيميائي للزيت الأساس للنعناع; (Mentha viridis) (الأنش (Laurus nobilis)) (الأنش (Rosmarinus officinalis)) والزعتر (Thymus palescense) التي تستخرج بالتقطير المائي, بواسطة  $(20\pm 100)$ 0. كما تم تقدير فعاليتها ضد الأطوار المنحركة وبيوض الغراد الثاني T.cinnabarinus1 بيظر وف المخبرية (25 ± 2 دم و 7.7 % في تقدير فعاليتها أن الزيت الأساسية للبرند ينتمي إلى النوع الكيميائي (chémotype) (من الرطوبة) (من الموبة) المسية للبرند ينتمي إلى النوع الكيميائي (Romarin (24,28%)2, المعناع مو من النوع الكيميائي (43.22) (من 1.34%) (من 1.34%) والزعتر : الزعتر نيمول Romarin (24,25%)2, بربت 5 الأكلال مي من (% 43.22) thym thymol والزعتر : الزعتر نيمول Romarin (15,25%)3, بربت 5 أو 1.25%). بيضع أقراص من أوراق الفاصولية في هتلف الحاليل السامة ثم ندخل 30 ومتحرك أو 50 بيضة. نقدرنسبة الوفيات وال(15,25%)3, برعة أضد القراد النباتي. ووفقا ل(15,25%)4 أثرت الأساسية الأربعة (معدل الوفيات 100 % أكبر جرعة أضد القراد النباتي. ووفقا ل(15,25%)5 الزيوت علىالبيض بنفس الترتيب ولكن (15,25%)6 الربوت علىالبيض بنفس الترتيب ولكن (15,25%)6 التركيب الكيميائي الزيت الأساسي تقطير المائي, وCCSM.

#### Résumé

La composition chimique des huiles essentielles de la Menthe verte( $Mentha\ viridis$ ), du laurier noble( $Laurus\ nobilis$ ), du romarin ( $Rosmarinus\ officinalis$ ) et du thym ( $Thymus\ palecsense$ ) dont l'extraction est réalisée par hydro distillation, est obtenue par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse. Leur toxicité vis- a vis des formes mobiles et des œufs de  $T.\ cinnabarinus\ (Acari: Tetranychidae)$ est évaluéedans des conditions de laboratoire ( $25^{\circ}C\ \pm 2$  et  $75\%\ HR\ \pm 5$ )

L'huile essentielle du laurier appartient au chémotype : laurier 1,8 cinéole (eucalyptol : 17,42%), la menthe est du chémotype : Menthe carvone (24,28%), le romarin est du chémotype : Romarin α-pinène (15,25 %) et le chémotype de l'huile essentielle de thym :

thym thymol, (43,22%). 5 doses des 4 huiles essentielles sont préalablement mises en suspension aqueuse maintenue par agitation constante (0,125,0,25,0,5,1,2%), sont appliquées par trempage de disques de feuilles de haricot. Les différents tests de toxicité sont évalués sur 30 formes mobiles ou 50 œufs. On évalue les mortalités et les  $DL_{50}$ . Les résultats ont montré une grande efficacité des quatre huiles essentielles (mortalité voisine de 100% à la plus forte dose). D'après les  $DL_{50}$  sur les formes mobiles : le thym est le plus toxique (0,05%) suivit du romarin (0,1%) du laurier (0,15%) et de la menthe (0,15%) et sur les œufs le classement est le même mais les  $DL_{50}$  sont un peu plus élevées.

**Mots clé :** *Tetranychus cinnabarinus*, composition chimique, Huile essentielle, hydro distillation, GCSM, toxicité.

### **Abstract**

The chemical composition of essential oil of the Spearmint (*Mentha viridis*), noble laurel (*Laurus nobilis*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and of the thym (*Thymus palescense*) which are extracted by hydrodistilation, is obtained by Chromatography in Gas phase coupled with the mass Spectrometry. Their toxicity against mobile forms and eggs of *T. cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) is estimated in conditions of laboratory ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  and  $75^{\circ}\text{HR} \pm 5$ )

The essential oil of the laurel belongs to the chémotype: laurel 1, 8 cine ole (eucalyptol 17,42

%), the mint is of the chémotype: mint carvone (24, 28 %) the rosemary is of the chémotype:

rosemary #-pinène and the chemotype of the essential oil of thyme: thyme thymol, (43,22%). 5 doses of 4 essential oils, are beforehand put in aqueous suspension maintained by constant excitement (0,125,0,25,0,5,1,2%), are applied by dip methods disks of bean leaves. The various tests of toxicity are estimated on 30 mobile forms or 50 eggs. We estimate the mortalities and the LC<sub>50</sub>. The results showed a big efficiency of four essential oils (mortality 100 % in the strongest dose). According to the LC<sub>50</sub> on the mobile forms: the thyme is the most toxic (0,05%) followed by the rosemary (0,1%), the laurel (0,15%) and mint (0,15%). On eggs the classification is the same but the LC<sub>50</sub> are a little more raised.

**Key words:** *Tetranychus cinnabarinus*, Chemical composition, essential Oil, hydro distillation, GCSM, toxicity.

# Introduction générale

Bien que les pesticides ont joués un très grand rôle dans la protection des produits agricoles, la longue durée de leur utilisation depuis leur création s'est révélée dangereuse aussi bien à l'homme qu'à l'environnement. Pour cette cause, la nouvelle technologie s'est penchée sur le contrôle biologique des parasites qui est à la fois efficace et sélective (AZAIZEH et al. 2002).

Le développement de pesticides non nocifs pour le consommateur et l'environnement est devenu, dés lors, le souci primordial des chercheurs. Dans la nature, on cherche à trouver les matières premières permettant d'aboutir aux bio pesticides à qualité biodégradable et non toxiques dans l'espoir de substituer les pesticides chimiques.

Parmi les arthropodes à intérêt agricole, les Tétranyques et en particulier *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval et *Tetranychus urticae* Koch sont pour les agriculteurs très redoutables. A travers le monde, ces deux acariens attaquent plusieurs espèces de plantes cultivées et provoquent de sérieux dégâts dont le résultat est la réduction du rendement (HAZEN et *al.* 1973). L'importance économique de ces deux ravageurs ne cesse de s'accroître d'une part à cause de la résistance aux produits chimiques qu'ils ont développé, et d'autre part, par la diminution de leur régulation naturelle due à la destruction de leurs prédateurs par les produits non sélectifs.

C'est pourquoi, la lutte intégrée propose l'application d'acaricides sélectifs par conséquent, l'usage des pesticides d'origine végétal moins toxiques aux prédateurs pourrait augmenter le taux de prédation, minimisant ainsi l'utilisation de produits chimiques et les risques de la pollution environnementale.

Pour cet objectif, et durant les dernières 30 années, plusieurs produits biologiques d'origine végétale ont été testés pour le contrôle des acariens, à titre d'exemple, des huiles essentielles étaient extraites de 14 espèces de plantes appartenant à la famille des Labiacées, quelques une d'elles étaient létales, répulsives et avaient un effet sur l'oviposition chez les femelles de *T. cinnabarinus* (MANSOUR et *al.*, 1986).

Des formulations à base du neem ( *Azadirachta indica* ) étaient testées sur *T. urticae* sur différentes cultures, elles s'étaient montrées efficaces par réduction de l'oviposition et arrêt de la mue des nymphes (SINGH et SINGH , 1999).

Dans la lutte contre la varois (acarien parasite de l'abeille), les huiles essentielles semble être une excellente alternative aux produits chimiques du fait qu'en plus de leurs efficacité, le miel issu des ruches traitées n'est pas contaminé (SAMMATRO et al., 1998).

Le patrimoine végétal en Algérie est connu par sa richesse et diversité, notamment en plantes médicinales qui en plus de leurs propriétés thérapeutiques, possèdent des activités bactéricides et fongicides. Des travaux sur quelque une d'elles ont mis en évidence leur effet insecticide.

Le présent travail est considéré comme une contribution à la découverte du potentiel acaricide de nos plantes.

Quatre espèces végétales sont choisies pour en extraire les huiles essentielles et ont fait l'objet de deux études ;

La première a ciblé l'efficacité, des huiles essentielles extraites, sur les œufs et les formes mobiles de *T. cinnabarinus*, leur mode d'action ainsi que leur rémanence ont été abordés.

L'étude qualitative et quantitative au moyen de la chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ( GCMS) est traitée dans la deuxième partie.

Ce travail pourrait être une source d'information pour entamer le développement de nouvelles formulations acaricides dont les principes actifs sont d'origine végétal.

## Partie I: Partie bibliographique

# I- Chapitre I : Synthèse bibliographique sur Tetranychus cinnabarinus

#### I-1- Introduction

Les acariens sont aujourd'hui des déprédateurs importants surtout des cultures intensives, les pertes de récoltes dues à leurs attaques sont difficiles à évaluer car elles sont en augmentation constante. IL ne s'agit pas seulement de pertes en quantité mais la qualité en soufre aussi (GUTIERREZ, 1989).

Les Tetranychidae sont les plus importants des acariens nuisibles aux plantes cultivées, ils ont une large répartition géographique (GUTIERREZ, 1989). Ils peuvent être monophages ou polyphages. C'est dans cette dernière catégorie que s'insère *Tetranychus cinnabarinus*, une espèce commune en Algérie et dangereuse pour un grand groupe de plantes cultivées plus particulièrement des cultures maraîchères protégées (BOULFEKHAR, 1985 et 1998). Ce petit monde pose de nombreux problèmes, notamment par leur aptitude à développer une résistance aux produits phytosanitaires (FAUVEL, 1999), ce qui rend le combat des agriculteurs contre ces ravageurs encore plus difficile.

Selon FENGYING et al., (1998), En chine, *Tetranychus cinnabarinus* infeste plus de 100 plantes d'hôte, parmi lesquelles le coton, le tabac, le maïs et des légumineuses. À cause de leur cycle de vie court et des taux de reproduction très hauts, les tétranyques acquièrent la résistance plus rapidement que la plupart des insectes. *T. cinnabarinus* a développé une résistance à 25 pesticides.

#### I-2- CLASSIFICATION ET SYNONYMIE

#### **I-2-1- CLASSIFICATION**

Tetranychus cinnabarinus appartient à : l'Embranchement des Arthropoda ; Sousembranchement des Chelicerata , Classe des Arachnida ; Sous-classe des Acari (NITZSCH, 1818) ; Super-ordre des Actinotrichida (GRAND JEAN, 1935) ; Ordre des Actinedida (HAMMEN, 1961) ;

Sous-ordre des **Prostigmata** (KRAMER, 1887); Super-famille des **Tetranychoïdae** ; Famille des **Tetranychidae** (DONNADIEU, 1875) ; Sous-famille des **Tetranychinae** ; Genre *Tetranychus* (DUFOUR, 1832) et l'espèce **Tetranychus cinnabarinus** (BOISDUVAL, 1867).

#### **I-2-2- SYNONYMIES**

Tetranychus cinnabarinus fait partie d'un groupe à la systématique très complexe. Il fût désigné durant plusieurs années sous des noms divers :Tetranychus telarius, Tetranychus althaeae, Tetranychus urticae Koch(DUPONT, 1979). Ila longuement été confondu avec T.

urticae du fait que les deux formes sont morphologiquement très similaires. En effet, en 1956, BOURDEAUX a étudié la position systématique de *T. cinnabarinus* et l'a séparé de *T. urticae* en se basant sur des études de croisement entre les deux espèces. Il a basé également ses observations sur la forme des lobes tégumentaires, la couleur et les hybrides, il a conclu que *T. cinnabarinus* est le synonyme de *T. urticae*.

La différence de couleur entre les deux formes constitue un autre problème ce qui remet en question l'estimation taxonomique. En 1970, VEERMAN avait mené une étude sur les caroténoïdes de l'hémolymphe des deux espèces, il avait montré que chez les deux formes d'acariens, le métabolisme des caroténoïdes était similaire.

Depuis, plusieurs études ont été menées visant le même objectif, chacune avait ses détracteurs et ses partisans. En 1990, KUANG et CHENG ont démontré qu'une distinction entre les deux espèces existe, se basant sur des données morphologiques, biologiques et moléculaires. Ils montrèrent que les femelles de *T. urticae* avaient 10 soies sur le tibia I alors que celles de *T. cinnabarinus* en avaient de 10 à 13 sur le tibia I (addition de 3 solénidia).

Cette étude a été reprise en 2000 par ZHI-QIANG ZHANG et JACOBSON sur 18 populations vertes et rouges, récoltées sur des feuilles de tomate cultivées sous serre dans des endroits différents des Etats-Unis, ils confirment que *T. urticae* est une espèce différente de *T. cinnabarinus*.

#### I-3 - REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET PLANTES HOTES

L'araignée rouge est polyphage et cosmopolite de ce fait, elle a une distribution très large dans le monde entier.

Sur le continent Africain et plus particulièrement dans les pays du Nord, *T. cinnabarinus* a été signalé sur agrumes au Maroc par CHAPOT et DELLUCHI (1964) et en Egypte dans le Delta du Nil par RASMY en 1972 cité par MITICHE (1979).

En Algérie, ATHIAS-HENRIOT est le premier auteur à mentionner sa présence en 1959 sur toute la côte algéroise, BRUN en 1972 l'a retrouvée à Annaba, Skikda, Mohammedia et Mitidja. Dans cette dernière zone, MITICHE (1979), BOULFEKHAR (1985) et HAMMADI (1994), l'avaient détectée sur agrumes et GUESSOUM (1988), avait signalé sa présence sur pommier. BOULFEKHAR (1998) avait dressé une liste de plantes hôtes. Sur cultures maraîchères, cet acarien a connu une prolifération assez importante sur le littoral algérois (ABED 1987), à Boumerdés (MOUACI, 1990), à Staoueli et à Ford de l'eau (SAHEB, 1999).

Dans le proche orient, l'acarien tisserand vivait en complexe avec d'autres acariens sur agrumes au Liban (DOSSE,1963 cité par MITICHE, 1979), en Europe, il a été trouvé par HATZINICOLIS en 1970 en Grèce, et par MC MURTRY (1977) en Espagne et en Italie sur agrumes. A Hawaii, GOFF (1986) l'avait signalé sur le coton, le tabac et les cultures maraîchères mais également sur la papaye et les fruits de la passion. En Asie, il est présent sur tabac, légumes, maïs et Coton. En chine, cet acarien provoquait des dégâts d'une grande envergure (FENGYING et al., 1998). Tetranychus cinnabarinus est un acarien qui s'attaque presque à 100 plantes cultivées et mauvaises herbes, c'est un sérieux ravageur sur cultures maraîchères, cultures fruitières et autres (GOFF, 1986).

#### **I-4 - DESCRIPTION**

#### I-4-1- la femelle

La femelle (Fig.1) de *T. cinnabarinus* a une forme ovale et globuleuse. Elle mesure 0,585 mm de long et 0,347 mm de largeur (HESSEIN, 1975). Selon LAPLANTE et SHERMAN, (1976), elle mesure 1/5 de pouce de longueur et selon MONNET et CAUQUIS (1999), la taille de l'adulte est comprise entre 0,5 et 0,8 mm de long. La couleur du corps, pendant les deux premiers jours de son développement, est beige verdâtre tout comme la deutonymphe qui a une couleur plus claire et une tâche sombre sur chaque côté. Par la suite, elle devient orange ou rouge avec deux tâches sombres de chaque côté, quelques jours après, elle devient rouge brique et deux autres tâches postérieures apparaissent, une sur chaque côté du corps (HESSEIN, 1975).



**Figure n°1 :** Tetranychus cinnabarinus :Jeune femelle à gauche ; femelle âgée à droite (BOULFEKHAR 2005)

#### I-4-2- Le mâle

Le corps du mâle, plus petit et plus effilé que celui de la femelle, se distingue par une extrémité abdominale pointue et des pattes relativement plus longues. Il est également d'une couleur moins prononcée (FAUVEL et al., 1987). (fig.2)



Figure n°2: Mâle de Tetranychus cinnabarinus (BOULFEKHAR 2005)

Les œufs (fig.4) de *T. cinnabarinus* sont déposés séparément et directement sur la surface inférieure des feuilles ou attachés aux fibres des toiles tissus (JEPPSON et *al.*, 1975), ils sont sphérique, luisants de couleur paille, et mesurent 1/25 de pouce de diamètre. Lorsque les populations sont très denses, les femelles déposent leurs œufs sur la face supérieure des feuilles et même sur les tiges (BOULFEKHAR, Communication personnelle)

#### I-5 - BIOLOGIE

#### I-5-1- Développement

#### I-5 -1-1-Cycle de développement

Dans leur développement, les Tétranyques passent par cinq stades : œuf, larve, protonymphe, deutonymphe et adulte. Les stades immatures larvaire, protonymphal et deutonymphal, sont actifs puis inactifs correspondants à des périodes de quiescence appelées respectivement : protochrysalide, deutochrysalide et téliochrysalide. Durant ces périodes d'inactivité, l'acarien enfonce ses pièces buccales dans le tissu de la plante et s'immobilise avant de muer, pendant ce temps, une nouvelle cuticule se forme avant le rejet de l'ancienne (CROOKER, 1985).

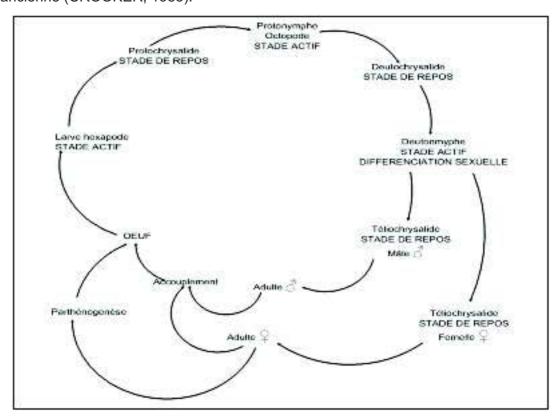


Figure n°3 : Cycle de développement de Tetranychus cinnabarinus

#### I-5 -1-2 - Durée de développement

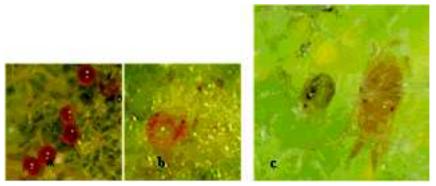
Selon HESSEIN, (1975), la période de développement de l'œuf à l'adule varie de 10 à 23 jours, elle est de 10 à 15 jours à 23 □2 °C. Selon JEPPSON et *al.* (1975), la température optimale pour le développement de *T. cinnabarinus* est de 32°C, sachant que les acariens peuvent se reproduire sous une température de 35°C si l'exposition est dans un temps limité. NATOURI et LELLOUCHI (1991), ont démontré que la période de développement de cette espèce est inversement proportionnelle à la température à 20 □1°C, la durée moyenne est de 16,62 jours, elle est de 12.54 jours à 25 °C de 7,96 jours à 30 °C et à 35 □1°C, elle n'est que de 5,96 jours en moyenne.

La période d'incubation varie de 3 à 8 jours avec une moyenne de 5,5 jours (HESSEIN, 1975). Selon les travaux de NATOURI et LELLOUCHI, (1991), l'embryogenèse à 20°C, est

de 7,42 jours, de 4.86 jours à 25 °C, de 2,61 jours à 30 °C et à 35 °C, elle n'est que de 1,16 jours en moyenne.

#### I-5-1-2-1-Stades juvéniles

Après l'éclosion des œufs, les larves apparaissent, elles sont légèrement plus grandes que les œufs, rosâtres et possèdent 3 paires de pattes. Les deux stades nymphals : protonymphe et deutonymphe diffèrent de la larve par la taille du corps qui est plus grande, leur couleur est rouge clair ou grise, et ont 4 paires de pattes (LAPLANTE et SHERMAN, 1976).



**Figure n°4 :** a : œufs ; b : larve et œufs fraîchement pondus, c : nymphes de Tetranychus cinnabarinus ( BOULFEKHAR, 2005)

Selon le même auteur, le stade larvaire dure 3 jours alors que pour les stades nymphals, la durée est de 4 jours pour chacun. Selon HESSEIN (1975), la durée des stades larvaires et nymphals n'est pas fixe est varie respectivement de 1,5 à 3 jours et de 1,5 à 4 jours.

#### I-5-I-2-Stade adulte

C'est à partir du stade protonymphe que la différence entre les individus qui donneront des mâles et ceux qui donneront des femelles commence à apparaître, les premiers sont de petite taille avec un abdomen étroit, alors que les seconds sont plus développés et plus ronds. Les mâles achèvent leur cycle avant les femelles (GUTIERREZ, 1989) cela a été constaté par NATOURI et LELLOUCHI (1991) ; en effet, les mâles émergent au bout de 16,16 jours en moyenne à 20°C contre 18,43 jours en moyenne pour les femelles. À 25 °C, les mâles immergent au bout de 10,45 jours en moyenne contre 13,4 jours en moyenne pour la femelle.

#### I-5-2 - PARAMETRES DEMOGRAPHIQUES

Les paramètres démographiques de T. cinnabarinus ont été évalués par NATOURI et LELLOUCHI (1991), grâce à des tables de vie établies sur douze générations, sous des conditions thermiques égales à 20, 25 et 35°C, et hygrométrique relative égales à 75  $\square$  5%.

#### I-5-2-1- Le potentiel net de reproduction

Chez *T. cinnabarinus*, le potentiel net de reproduction augmente avec la température, en effet, il a été remarqué qu'à 20°C, une population peut se multiplier en moyenne de 21,05 fois en une génération, tandis qu'à 25°C, cette population peut se multiplier en moyenne de 52,57 fois. A 30°C, le potentiel net de reproduction est de 69,48 et à 35°C, la population présente un potentiel net de reproduction de 86.33 en moyenne en une génération.

#### I-5-2-2- La durée d'une génération

La durée d'une génération de *Tetranychus cinnabarinus* et en moyenne de 27,05 ; 20,79 ; 14,16 ; et 11,98 respectivement à 20, 25, 30, et 35°C □1°C.

#### I-5-2-3- Le taux intrinsèque d'accroissement d'une population

Une population de *T. cinnabarinus* élevée à 20°C à un taux intrinsèque d'accroissement de 0,109, de 0,167 à 25°C, à 30°C il est estimé à 0,296 et enfin à 35°C il est en moyenne de 0,371.

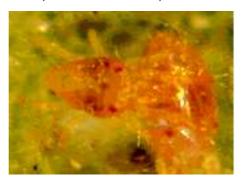
#### I-5-2-4- Le taux de multiplication d'une population

La population de *T. cinnabarinus* s'accroît en moyenne de 1,11 par jour et par femelle à 20°C, de 1,20 à 25°C, 30°C, ce taux de multiplication est de 1,34 en moyenne, et à 35°C, il atteint 1,45 en moyenne.

Récemment, en 2004, BISWAS *et al.*, avaient étudié quelques aspects biologiques de *T. cinnabarinus* et ont confirmé que l'augmentation de la température induisait la réduction de la durée de développement, ils ont également démontré que l'humidité relative n'a aucun effet sur le cycle de développement de cet acarien.

#### I-5-3- L'ACCOUPLEMENT

Chez les tétranyques, existe une période de pré copulation qui se passe avant l'émergence des femelles deutonymphes (fig.5). En effet, pour accroître leur probabilité d'accouplement, les mâles commencent à garder les femelles avant leur éclosion, à 27°C, cette période s'achève à 40 heures, la garde pré copulative commence plutôt, à 20 heures, pour maximiser la réussite de la pré copulation, un mâle doit garder uniquement une femelle de grande taille proche de la maturité (MITCHELL, 1973).



**Figure n° 5 :** T. cinnabarinus à proximité d'une téliochrysalide femelle (BOULFEKHAR, 2005)

Lors de l'accouplement, le mâle s'accroche à la femelle à sa partie ventrale tout en soulevant la partie postérieure de son corps pour chercher à atteindre l'orifice vaginale de la femelle, le processus dure de 2 à 5 minutes, une femelle peut s'accoupler plusieurs fois et avec plusieurs mâles en un laps de temps court (HESSEIN, 1975).

#### I-5-4- POTENTIEL DE PULLULATION DE T. CINNABARINUS

#### I-5-4-1- Facteurs intrinsèques

#### I-5-4-1-1- Fécondité des femelles

La production des œufs chez *T. cinnabarinus* est de 107,4 en moyenne, le nombre maximal est de 158 sur Haricot, 89,5 sur Œillet et 128 étant le nombre maximal (VAN DE VRIE et *al.*, 1972).

Selon BOURDEAUX, (1958) cité par VAN DE VRIE et al. (1972), cette différence de production des œufs est due à l'influence de l'humidité et de la plante hôte.

Selon NATOURI et LELLOUCHI, (1991), la ponte totale des femelles est de 57,25 œufs en moyenne à 20°C, à 25°C elle est de 74,68 œufs en moyenne, à 30°C elle est de 83,35 œufs en moyenne, alors qu'à 35°C, elle est de 101,68 œufs en moyenne. Selon GUTIERREZ (1969), dans la nature la fécondité des femelles est plus importante que dans les conditions de laboratoire.

#### I-5-4-1-2- La longévité des femelles

Selon MAGDALLENA *et al.*, (1978) la femelle peut vivre 40 jours. NATOURI et LELLOUCHI en 1991 ont montré que la température agit sur la longévité des femelles de *T. cinnabarinus*, cette dernière diminue avec l'augmentation de la température, en effet, à 20°C, la durée de vie moyenne est de 18,4 jours, à 25°C, elle est de 15,76 jours en moyenne, à 35°C elle n'est que de 10,38 en moyenne.

ATHIAS-HENRIOT et BOURDEAUX (1964) et WRENSCH et YOUNG (1975), ont montré que la densité des populations a tendance à réduire la longévité. Selon DAVIS (1952) cela se traduit par une basse production des œufs et un au haut pourcentage d'œufs non viables.

#### I-5-4-1-3- Le sex-ratio

Le rapport de la représentation des deux sexes chez les Tetranychidae varie d'une espèce à une autre (GUTIERREZ, 1969). Il est en moyenne d'un mâle pour trois femelles (HELLE et PIJNACKER, 1985). Le sex-ratio peut être influencé par plusieurs facteurs : qualité de la femelle (WRENSCH et YOUNG, 1983), densité de la population (WRENSCH et YOUNG, 1978) et température (HAZAN et al., 1973), il peut dépendre de la qualité du sperme déposé (OVERMEER, 1972), qui dépend à son tour du temps de copulation. MITCHELL, (1972), le jugea dépendant de l'hérédité.

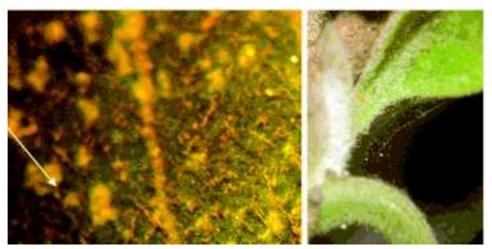
#### I-5-4-2 -Facteurs extrinsèques

La pullulation de *T. cinnabarinus* est fortement influencée par un grand nombre de facteurs extrinsèques qui agissent sur tous les paramètres de reproduction (température, hygrométrie, photopériode, le vent et la pluviométrie) (VAN DE VRIE et *al.*, 1972). En addition à ces facteurs météorologiques, viennent s'ajouter le niveau de prédation, la compétition intra et extra spécifique et la qualité de la plante hôte (WRENSCH et YOUNG, 1975).

#### I-6- LES DEGATS

Durant l'alimentation, l'acarien introduit son stylet dans la plante et suce le contenu cellulaire, les fortes populations sur la même plante augmentent la zone des dégâts et des dommages, ainsi, les symptômes se traduisent par l'apparition de taches plus ou moins accentuées sur la face supérieure du feuillage pouvant aller jusqu'au dessèchement et chute des feuilles

(fig.6) (GUTIERREZ, 1989) ce qui peut engendrer une défoliation complète de la plante (BOUNFOUR, 1990).



**Figure n°6 :** dégâts de Tetranychus cinnabarinus à gauche taches nutriciales sur la face supérieure de la feuille d'Iochroma tubulosa ; début de dessèchement à droite.

(PHOTOS BOULFEKHAR 2005)

Lors des fortes attaques, les dommages sont sévères sur la palissade du parenchyme si les individus d'acariens occupent la partie supérieure de la feuille, en occupant la face inférieure et dans ce cas, c'est le parenchyme poreux qui est endommagé Des études cytologiques sur les tissus endommagés ont montré des changements remarquables dans les cellules adjacentes, déformation, manque des protoplastes, rétrécissement et parfois rupture des parois et destruction des chloroplastes qui entraîne une nette réduction de la chlorophylle, il est très évident que les cellules endommagées dans les feuilles atteintes interrompent le contact des cellules saines entre elles par l'espace intercellulaire vide, ce qui provoque leur déséquilibre (TOMCZYK et KROPCZYNSKA,1985).

D'importants changements dans la composition chimique de la plante hôte lors d'une attaque d'acarien ont été mis en évidence aussi bien pour les composants organiques qu'inorganiques. En effet, le contenu de plusieurs éléments minéraux de base comme le nitrogène et le phosphore était réduit (HEBBERT et BUTLER, 1973 - GOLIK, 1975). Dans les feuilles endommagées, les protéines peuvent être dégénérées ou bien leur synthèse est empêchée. Les carbohydrates, les composants phénoliques et les hormones peuvent être également influencés par la nutrition des acariens.

Simultanément avec les changements cytologiques et chimiques dans les plantes endommagées, de remarquables modifications dans le processus basal de la physiologie telle que la transpiration peuvent être remarqués. La plante perd une grande quantité d'eau par évaporation suite au déséquilibre de la fonction des stomates (SANCES *et al.*, 1979).

La photosynthèse est également affectée par la destruction des chloroplastes, en plus, une réduction dans l'activité de l'amylase et des enzymes protéolytiques est notée. Il a été même remarqué que les substances nitrogènes s'accumulent dans les pousses et sont réduites dans les racines (ZUKUVA, 1963).

#### 1-7- LA TOILE DE T. CINNABARINUS

La présence de *T. cinnabarinus* sur ses plantes hôtes est souvent remarquable après l'apparition des premiers symptômes d'infestation par une toile tissée sur la face inférieure des feuilles en cas de fortes populations, la toile peut recouvrir toute la plante et sert pour infester les plantes avoisinantes. Selon GERSON et ARONOWITZ, (1989), le tissage de la toile est considérablement influencé par les plantes hôtes, selon leur qualité nutritive, il a été démontré pour *T. cinnabarinus*, que la production de la toile était plus élevée sur Haricot.

HAZAN *et al.* en 1973, avaient constaté une étroite corrélation entre la quantité de soie et le nombre d'œufs déposés, ainsi, il a été remarqué que le pourcentage des éclosions des œufs pondus au dessous de la toile était élevé par rapport à ceux pondus en dehors de la toile à des humidités relatives hautes et basses. L'intérêt de la toile dans ce cas, serait de réguler l'humidité au voisinage des œufs. La toile est utilisée également comme un moyen de prolifération, en effet, quand les colonies accroissent, les membres doivent résoudre le problème d'espace, la toile est la solution temporaire, pour contenir l'effectif en sur plus. Selon GERSON et ARONOWITZ, (1989), des toiles peuvent être tissées entre une plante et une autre avoisinante pour permettre la prolifération des acariens. (fig.7)



Figure n° 7: toiles de T. cinnabarinus (BOULFEKHAR, 2005)

### II- Chapitre II: Les huiles essentielles

#### **II-1-HISTORIQUE**

Depuis la plus haute antiquité, les parfums et les arômes furent parmi les premiers signes de reconnaissance qui marquèrent la vie des hommes. Ils furent étroitement associés à la vie spirituelle de l'homme (Egypte, Inde), ainsi qu'à l'histoire de la médecine (Grèce, Empire Romain, Empire Arabe).

Au début du XVIIème siècle, Parcelese<sup>1</sup>, étudia l'extraction de « l'âme » des végétaux sous forme de «Quintessence»<sup>2</sup> à laquelle le nom d'esprit a été donné. Puis, on lui attribua le nom « d'essence » et finalement «d'huile essentielle» (LAFON et *al.*, 1988).

#### **II-2 -DEFINITION**

Médecin suisse père de la pharmacologie

Où cinquième essence désignant ce qu'il y a de principal, de subtil, de plus parfait au sein de la plante

Selon DURVELLE (1930), les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables, s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont ordinairement liquides à la température ordinaire, quelques unes sont solides ou en partie cristallisées; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité, leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable, et par la propriété qu'elles ont de ne pas laisser de tache durable sur le papier.

Elles se trouvent, pour la plus grande partie, toutes élaborées par l'organisme végétal ; mais il en est qui ne prennent naissance qu'au moment où les parties végétales sont mises en contact avec de l'eau, telle est l'essence d'amande et de moutarde (DURVELLE, 1930).

D'après NAVES, (1976) cité par GARNERO (1996), aucune des définitions des HE n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision, les HE sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau.

Cette définition peut être étendue aux HE obtenues par expression à froid de l'écorce ou zeste des fruits de Citrus, à cause de l'intervention de l'eau dans les procédés mécaniques pour entraîner le produit libéré des alvéoles oléifères.

L'AFNOR, (2000 a, b et c), a définit les huiles essentielles comme étant : « Des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont préparés de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

La nouvelle Encyclopédie FUNK et WAGNALLS, (2004) décrit les huiles essentielles comme étant des « liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement soluble dans les alcools, éthers et huiles végétales et minérales. Elle sont habituellement non huileuses au contact ». Elles peuvent être groupées dans six classes selon leur structure chimique :

- · hydrocarbures, tels que le limonène dans l' huile de citron;
- · alcools, tels que le bornéol dans le camphre du Bornéo;
- les esters, tels que le salicylate méthylique dans l'huile de wintergreen;
- aldéhydes, tels que l'aldéhyde benzoïque dans l'huile des amandes amères;
- · cétones, telles que la menthone dans l'huile de menthe poivrée;
- · lactones et oxydes, tels que la coumarine des haricots de tonka .

Le terme « huile » provient du fait que les substances volatiles contenues dans le végétal sont visqueuses et hydrophobes. Elles ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses. Le terme «essentielle» ; reflète le caractère principal des plantes à dégager des odeurs agréables (EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

#### II-3 - LOCALISATION DES HUILES ESSENTIELLES

Ces essences peuvent se rencontrer dans toutes les parties vivantes de la plante à citer : les sommités fleuries (ex : basilic, la lavande ou la menthe) ; les racines ( $\underline{ex}$ : vétiver) les graines ( $\underline{ex}$ : muscade) ; les fruits ( $\underline{ex}$ : l'anis, le fenouil ou l'orange) ; les fleurs ( $\underline{ex}$ : rosier) ; les feuilles ( $\underline{ex}$ : eucalyptus, laurier ou patchouli) ; les écorces ( $\underline{ex}$ : cannelier) ; le bois ( $\underline{ex}$ : camphrier ou santal)

Elles sont souvent plus concentrées dans les brindilles, les fleurs et les graines. Dans une même plante, ces huiles peuvent exister à la fois dans différents organes. La composition chimique pouvant varier d'un organe à un autre. Ainsi dans le cas du citronnier, la fleur et le fruit fournissent des essences de composition chimique différente (BAALIOUAMER, 1987).

#### II-4 - SYNTHESE DES HUILES ESSENTIELLES

#### II-4-1- éléments de synthèse des huiles essentielles

La synthèse des huiles est liée à des cellules spécialisées, rarement isolées (feuilles de Laurier, Gingembre), le plus souvent regroupées en poches (Rutacées, Myrtacées) ou en canaux sécréteurs (Apiacées, Astracées), l'excrétion de l'huile essentielle dans la cavité des poches ou canaux est réalisée par exocytose (Myrtacées) ou lyse des cellules bordant la cavité (Rutacées) (GUIGNARD.1996).

Chez la plupart des plantes, les huiles essentielles sont synthétisées dans des trichomes glandulaires spéciaux (poils) à la surface des feuilles (fig.8) (GERSHENZON et al., (1992); MC CASKILL et al., (1992); TURNER et al., (1999); SHARMA et al., (2003) WAGNER et al., (2004).

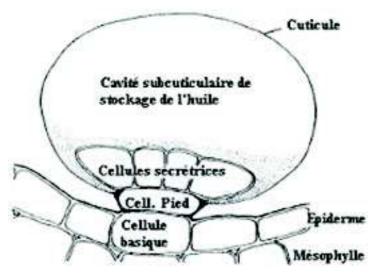


Figure n° 8: Représentation schématique d'une coupe de poil glandulaire. Les huiles essentielles sont produites dans les cellules sécrétrices puis accumulées dans la cavité qui se forme entre les cellules sécrétrices et la cuticule qui les recouvre (TURNER et al., 1999, WAGNER et al., 2004).

#### II-4-2 – structure des éléments élaborant les HE

#### II-4-2-1 – Les cellules sécrétrices

Certaines cellules des épidermes sont productrices d'HE ou de résines : pétale de rose, de violette, de muguet, de jasmin, tiges et feuilles de lavandes, de pélargonium, cellules à résines ou à oléorésine des tiges de diverses caryophyllées, des écailles externes de bourgeons (Peuplier, Marronnier). Ces cellules diffèrent habituellement des autres cellules épidermiques : elles ont une taille plus petite, leur paroi externe peut être dépourvue de

cutine, ou bien elles font saillie, en forme de papilles ; parfois, elles forment des plages superficielles (chez les Myoporacées).

#### II-4-2-2 – Les poils sécréteurs

Sont des émergences de l'épiderme, dont les cellules terminales sécrètent l'huile essentielle ou résine. Leur forme est variable et souvent caractéristique d'une famille (Fig. 9).

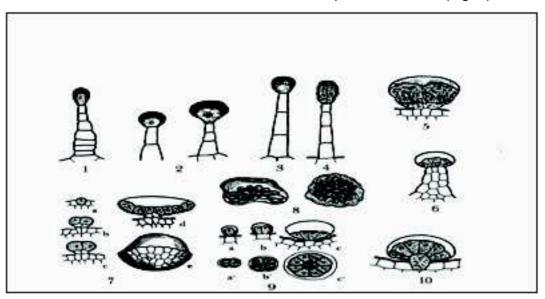


Figure n° 9: Poils sécréteurs uniséries

1. Cistus ; 2. Primula siensis ; 3. Pelargonium zonale ; 4. Hyoscyamus. 5. Poil sécréteur massif de Pyrèthre ; 6. Poil sécréteur à tête pluricellulaire de Chanvre ; 7.a, b, c, Stades successifs du développement d'une glande à lupulin ; d, glande en coupe verticale. L'HE soulève la cuticule ; e, glande entière ; 8. Poils sécréteurs de Kamala. 9. Stades successifs du développement d'un poil sécréteur de Labiée, en coupe verticale a, b, c et en projection horizontale : a', b', c'. 10. Poil sécréteur de Thym (DEYSSON, 1978).

#### II-4-2-3 – Cellules sécrétrices internes

Des cellules à HE se rencontrent dans les tissus internes : parenchyme cortical, philoème, xylème. Leur présence constante dans certaines régions est souvent caractéristique d'une famille. Ces cellules se distinguent le plus souvent des cellules voisines par leur contenu, par leur taille un peu plus grande et par leur paroi un peu plus épaisse (Fig.10).

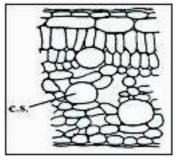


Figure n°10 : Cellule sécrétrice interne. Feuille de Boldo (Peumus boldus) (DEYSSON, 1978).

Parmi les familles renfermant des cellules à HE, on citera notamment : les Aroïdées, les Pipéracées, les Monimiacées, les Myristicacées, les Lauracées (Cannelles et Camphrier), quelques composées.

#### II-4-3 – Les poches sécrétrices

#### II-4- 3- 1 - Poches « lysigènes »

Il s'agit de groupes de cellules à mucilage dont les parois mitoyennes sont tardivement lysées. Dans chaque cellule, le mucilage résulte d'une hyperactivité Golgienne, les nombreuses vésicules formées déversant, par exocytose, leur contenu entre la matière vivante et la paroi ; la matière vivante se trouve ainsi soumise à une pression de plus en plus forte et, après s'être fortement contractée, entre en dégénérescence.

#### II-4-3-2- Poches schizogènes

Elles proviennent d'une cellule parenchymateuse qui se divise en 4 cellules par deux cloisonnements successifs perpendiculairement l'un à l'autre. Le méat central, limité par ces cellules, constituera la poche : il s'agrandit tandis que les quatre cellules qui le bordent se divisent par des cloisons radiales ; le méat devient ainsi une poche limitée par une rangée de cellules « de bordure » qui sécrètent l'huile essentielle. Ce type de poches se rencontre chez les Myrtacées, chez des Hypéricacées, chez des Clusiacées, chez les feuilles de quelques Conifères, chez quelques composées.

#### II-4-3 -3 - Poches schizolysigènes

Les débuts de leur formation sont identiques au mode de formation des poches schizogènes. Mais, lorsque la poche schizogène est ainsi formée, les cellules de bordure se divisent par des cloisons tangentielles ; le méat collecteur est alors bordé par plusieurs assises de cellules superposées ; les plus internes de ces cellules se lysent : on observe, dans la cavité, mêlés aux produits sécrétés, les débris de leurs parois (Fig.11 [3 et 4]). Ces poches sont propres aux Rutacées ; on constate leur présence par l'observation directe d'une tranche de zeste d'orange ou de citron.

#### II-4- 4 - Canaux sécréteurs

Ce sont des poches sécrétrices très allongées ; ils se forment, en général, par schizogonie, mais le processus de formation intéresse alors une file de cellules superposées (fig. 11 [5 et 6]).

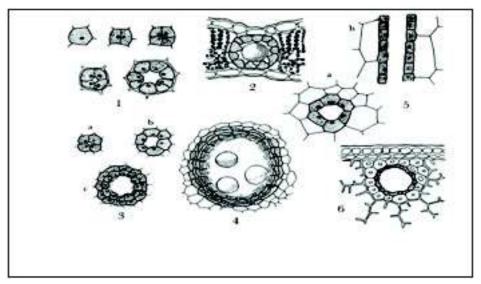


Figure n°11 : Les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs

1-2. Stades successifs de la formation d'une poche sécrétrice schizogène ; poche schizogène d'Hypericum perforatum (Haberlandt). a, b, c, stades successifs de la formation d'une poche schizolysigène ; la poche est définitivement constituée par lyse des cellules internes (Rutacées). 5. Canal sécréteur de Lierre (hedera) a, en coupe transversal ; b, en coupe verticale ; 6. Canal sécréteur de la feuille de Pin (DEYSSON, 1978).

En coupe transversale, le canal apparaît comme une poche de faible diamètre ; en coupe longitudinale, on reconnaît deux files de cellules de bordure limitant la cavité centrale. Chez les conifères, il existe souvent deux couches superposées de cellules bordantes. Les canaux sont souvent protégés par des amas de tissus de soutien (collenchyme chez les Ombellifères, sclérenchyme chez les Térébinthacées).

Les cellules sécrétrices sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante ce qui facilite leur émission. En effet, lorsque la température est assez élevée, les essences traversent la paroi cellulaire et la cuticule sous forme de vapeur vers l'extérieur d'où le dégagement des parfums des fleurs.

#### II-5-ROLE DES HUILES ESSENTIELLES CHEZ LES PLANTES

Les huiles essentielles émises par les plantes sous forme de vapeur ont des fonctions multiples dans la nature. Actuellement, il est souvent difficile de les préciser dans tous les cas, néanmoins, il semble probable qu'elles aient un rôle écologique.

En effet ; expérimentalement il a été établi qu'elles interviennent dans les interactions 'végétaux animaux'. Ainsi, elles constituent un moyen de communication (langage chimique) (BRUNETON, 1997).

Certaines essences attirent les insectes et favorisent la pollinisation. D'autres servent à la défense des plantes contre les déprédateurs herbivores, insectes, micro-organisme, ou autres. en 1975, PATTERSON *et al.*, avaient démontré que la résistance de la tomate à *Tetranychus urticae* était due à l'effet répulsif et toxique des sesquiterpènes.

CAPO et al., en 1990 ont démontré que les propriétés toxiques et inappétences des substances de certaines huiles peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs.

Il convient enfin de signaler que pour les plantes des régions désertiques, les vapeurs de l'huile saturent l'air autour de la plante et permettent de maintenir une certaine humidité qui empêche la température d'augmenter d'une manière excessive pendant le jour et de baisser au cours de la nuit (BELAICHE, 1979 cité par EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

#### II-6- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Les huiles essentielles diffèrent des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leurs compositions, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères (SALLE, 1997). Autrefois, les essences étaient appréciées pour leurs propriétés organoleptiques (odeur, goût, couleur et aspect), vu l'usage qui en était fait comme matières aromatisantes et parfumantes.

Aujourd'hui les propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, d'ester...) sont exigées pour leurs évaluations commerciales (BADJAH HADJ AHMED ,1978 cité par EL ABED et KAMBOUCHE, 2003)

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolores ou faiblement colorées (jaune pâle). Cependant, on rencontre quelques-unes d'entre elles qui sont colorées comme l'essence de cannelle, d'absinthe et de camomille qui sont respectivement colorées en rouge, vert et bleu.

La plus part d'entre elles sont plus légères que l'eau. Il existe toutefois des huiles plus lourdes comme par exemple les essences de cannelle, girofle et de sassafras.

Leur densité varie de 0,8 à 1,08, leur température d'ébullition est de 160°C à 240°C Elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques.

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques usuels et les huiles grasses. Elles sont liposolubles et très peu solubles dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leur odeur. On parle alors d'eau aromatique (BRUNETON, 1997).

Elles se caractérisent par des indices chimiques qui permettent d'évaluer approximativement la quantité de fonctions chimiques (acides, ester, alcools...) présentes dans les composants de l'essence.

De plus, elles sont sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures.

En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distincts : le groupe des terpénoïdes, le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane et les constituants d'origines diverses.

Les terpénoïdes (ou terpènes) sont des hydrocarbures de structure très diverses : acycliques, monocycliques, bicycliques...portant parfois différentes fonctions.

Leur formule brute est : (C  $_5$  H  $_8$ )  $_{n_1}$  de ce fait et selon la valeur de n, on peut les classer commesuit : N =1, les hémi terpènes en  $C_5$ ; N=2 les mono terpènes en  $C_{10}$ ; N=3

les sesquiterpènes en  $C_{15}$ ; N = 4 les terpènes en  $C_{20}$ ; N = 5 les ses terpènes en  $C_{25}$ ; N = 6 le tri terpènes en  $C_{30}$ , N = 8 les caroténoïdes en  $C_{40}$ ;

#### N=∞les poly terpènes en C>40

Les mono terpènes constituent les composés principaux des huiles essentielles suivis de sesquiterpènes et rarement des diterpènes (BRUNETON, 1997).

Les mono terpènes : leurs variations structurales sont très diverses : hydrocarbures, alcools, cétones, etc....

Les hydrocarbures: les carbures sont presque toujours présents. Ils présentent dans certains cas plus de 90% de l'huile essentielle, ils peuvent être: Acycliques (myrcène, ocimène,...) Monocycliques (p-cymène, α et γ terpinène,...) bicycliques (α- et β-pinène, carène, camphène, sabinène,...).

Les alcools: les alcools eux aussi peuvent être: Acycliques (géraniol, linalol, citronellol,...) Monocycliques (menthol, α terpinéol, thymol,...) bicycliques (bornéol, fenchol,....).

Les aldéhydes et les cétones : les dérivés carbonylés sont le plus souvent acycliques : Géraniol, néral, citronellel, tagétone,....lls peuvent être monocycliques (menthone, carvone, puégone,....), bicycliques (camphre, fenchone, thuyone,....).

Les esters : on retrouve des esters acycliques : acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle, acétate de géranyle,....et monocycliques : acétate de menthyle, ou d' $\alpha$  terpényle,

Les sesquiterpènes: de même que les monoterpènes, Les sesquiterpènes sont de structure très diverses: les carbures (β-bisabolèneβ-caryophylène....), les alcools (farnésol, carotol,...) et les cétones (nootkatone, β-vétivone,...), les aldéhydes(sinensal....) et les esters (acétate de cédryle....).

Composés d'origines diverses : selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînable lors de l'hydrodistillation : carbones (linéaires ou ramifiés, saturés ou non), acides (C3 à C10), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones.

#### II-7- FACTEURS DE VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES

La teneur et la composition chimique d'une huile essentielle varient en fonction d'un grand nombre de facteurs extrinsèques et intrinsèques, l'existence des chémotypes, l'influence du cycle végétatif et le procédé d'extraction, contribuent dans cette variabilité.

#### II-7-1 facteurs extrinsèques

· Origine géographique :

Le rendement des huiles essentielles ainsi que leur composition chimique diffèrent suivant l'origine géographique de la plante.

A titre d'exemple, les feuilles d'un même type de romarin poussant dans divers pays fournissent une essence dont le rendement d'extraction est de 0,43 à 0,73 % pour l'Espagne, 0,38 à 0,80 % pour la France (VERNOU et RICHARD, 1976), 0,50 % pour l'Algérie (El-GUEDOUI, 2003).

Facteurs Ecologiques :

Les caractéristiques écologiques exercent sur la production et la qualité de l'essence une influence directe (GARNERO, 1985 cité par EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

Facteurs climatiques :

La durée d'exposition au soleil, le régime des vents, les températures nocturnes et diurnes, l'humidité, la pluviométrie, etc.....sont des paramètres responsables des modifications de la proportion de l'essence et de sa composition chimique surtout chez les espèces à structures histologiques superficielles de stockage

L'exemple idéal pour mieux illustrer le phénomène est la menthe poivrée où la formation du menthol est favorisée par les nuits froides. Les jours longs et les nuits tempérées au contraire conduisent à une quantité plus grande d'huile essentielle et à une augmentation de la teneur en menthofuranne (CLARCK et MENERY, 1980 cité par EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

Facteurs pédologiques :

La nature du sol, les aspects culturaux comme la densité de culture, l'apport d'engrais, le nombre de récolte par an et l'alimentation en eau affectent d'une manière déterminante la qualité des huiles essentielles et leur rendement.

#### II-7-2-Facteurs intrinsèques

Sont des variables qui dépendent de la plante elle même.

Origine botanique :

Le rendement et la composition chimique d'une huile essentielle sont fonction respectivement de la famille et de l'espèce productrice.

Les chémotypes :

Les chémotypes ou les races chimiques existent chez de nombreuses plantes aromatiques et fournissent des essences différentes par leur composition. L'un des exemples le plus démonstratif qu'on peut citer est celui du thym

(Thymus vulgaris L.). Cette espèce a sept (07) chémotypes différents: thym à thymol, carvacrol, géraniol, linalol, α-terpinol, myrcénol, thuyanol (GARNERO, 1996).

· Sites producteurs:

Le rendement des huiles essentielles ainsi que leurs contenus dépendent du nombre de glandes sécrétrices existant et de leur localisation au niveau des différents organes de la plante. La teneur en huile essentielle est plus importante dans les fleurs que dans les feuilles (WERKER et al., 1985 cité par EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

#### Cycle biologique :

La composition en huile essentielle d'une plante donnée varie avec son âge et les différents stades de son développement au fil des saisons.

Par exemple, au début de la période de la floraison, la menthe poivrée (*Mentha piperita*) comporte une forte proportion de menthone et de néomenthol qui diminue par la suite du fait de leur conversion en menthol et en un composé non volatil le glucoside de néomenthyle (BRUNETON, 1997).

#### II-7.3 -Conservation du matériel végétal

La période de récolte, le séchage ainsi que le stockage du matériel végétal entraîne de profondes modifications sur l'essence (GARNERO, 1985 cité par EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

#### Facteurs technologiques :

Le mode d'extraction d'une huile essentielle marque de son empreinte la composition chimique de celle-ci en effet, l'hydro distillation et la distillation par solvant volatil ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence.

La durée et la vitesse, ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence. Lors de l'hydro distillation, mais également, au cours de cette dernière, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations,...Etc. (BRUNETON, 1997).

#### II-I-8 - METHODES D'IDENTIFICATION DES HUILES ESSENTIELLES

La chromatographie est une méthode d'analyse chimique consistant à séparer les constituants d'un mélange. Aussi est-elle universellement employée au laboratoire comme dans l'industrie, tant pour l'analyse proprement dite que pour la séparation ou l'isolement des corps purs. Sa découverte remonte à 1903, elle est due au botaniste russe TSWETT qui avait observé la séparation des constituants de la chlorophylle brute lorsque sa solution montait, par capillarité, le long d'un papier filtre.

Depuis la chromatographie a connu plusieurs modifications faisant d'elle la technique analytique la plus pratique pour les substances difficiles à isoler des mélanges qui en contiennent plusieurs homologues (SAVIDAN et ROSSER, 1998).

Pour l'identification d'un composé déjà connu et dont les caractéristiques spectrales sont décrites, le couplage chromatographie en phase gazeuse (CPG) associé à la spectrométrie de masse (SM) constitue l'équipement de base des laboratoires de contrôle ou même de recherche. Au cours des vingt dernières années, les analyses des huiles essentielles sont couramment réalisées par combinaison des données spectrales (SM) avec les indices de rétention mesurés sur deux colonnes différentes par rapport aux temps de rétention d'une série d'alcanes linéaires (ADAMS, 1989 ; JENNINNGS et SHIBAMOTO, 1980 cité par CASANOVA et TOMI, 2000).

L'utilisation de ces indices avait été introduite par (KOVATS, 1965) dans le cas d'une analyse chromatographique isotherme avec interpolation logarithmique et ils sont d'ailleurs communément décrits sous cette dénomination (IK) même si on utilise aujourd'hui une programmation de température et une interpolation linéaire. Cependant, quand on se trouve en présence d'huile essentielle très complexe, que se soit par le nombre et surtout par la nature de ses constituants, les sesquiterpènes possédant des spectres de masses insuffisamment différenciés et des indices de rétention très proches par exemple. l'utilisation du couplage CPG /SM peut se révéler insuffisant ; Il est alors nécessaire, pour garantir la détermination non ambiguë de certains constituants, de mettre en œuvre plusieurs techniques. Ainsi l'utilisation de la SM avec ionisation positive ou négative (BRUINS, 1979) de la SM bidimensionnelle SM-SM (CAZAUSSUS, PES et SELLIER, 1988 cités par CASANOVA et TOMI, 2000) ou de l'infrarouge transformé de Fourier (FTIR) COLMAN et GORDON, (1991) peut améliorer les résultats dans certains cas comme l'identification des stéréo isomères ou de sesquiterpènes particuliers (JOULAIN et LAURENT, 1989). Des couplages associant deux techniques spectroscopiques et une technique chromatographique, CPG-SM-IRTF(chromatographie phase gazeusespectromètrie de masse- infra rouge à transformé de Fournier) (HEDGES et WILKINS, 1991) ou deux techniques chromatographiques et une technique spectroscopique, CLHP/ CPG/SM (chromatographie phase liquide haute performence- chromatographie phase gazeuse-spectromètrie de masse) (MONDELLO et al., 1996), ont été développés et utilisés pour l'analyse détaillée de certaines huiles essentielles. Ces techniques améliorent la fiabilité des résultats mais dans le même temps la durée de l'analyse est considérablement accrue.

L'utilisation de la RMN ( résonance magnétique nucléaire) du carbone–13 comme outil d'analyse a fait l'objet des travaux précurseurs de FORMACEK et KUBEZCKA, 1982 cités par CASANOVA et TOMI, (2000). Cependant du fait des fortes concentrations en produits utilisés, des variations importantes des déplacements chimiques, pouvant atteindre 0,5 ppm, étaient observées.

Dans ces conditions, il semble que la RMN du Carbone–13 ait été employée d'avantage pour confirmer la présence d'un composé déjà suspecté par la CPG ou le couplage CPG/SM que comme outil véritable d'identification.

Depuis une dizaine d'années, l'équipe de recherche chimie et biomasse de l'université de Corse a mis au point et développe une méthodologie d'identification des constituants des huiles essentielles, basée sur l'analyse assistée par ordinateur, du spectre de RMN du Carbone 13. (CASANOVA et TOMI, 2000).

La chromatographie en phase gazeuse :

La chromatographie en phase gazeuse est définit comme étant une méthode de séparation sur colonne de substances volatiles véhiculées par un gaz inerte appelé gaz vecteur (fig. 12).

On peut avoir plusieurs types de CPG:

- Une chromatographie de partage entre la phase stationnaire de la colonne et le gaz vecteur ;
- · Une chromatographie d'adsorption sur la phase stationnaire ;

Cette technique nécessite l'utilisation d'une colonne capillaire pour séparer les divers constituants du mélange, la colonne doit être portée à haute température dans le but de maintenir les molécules sous forme gazeuse.

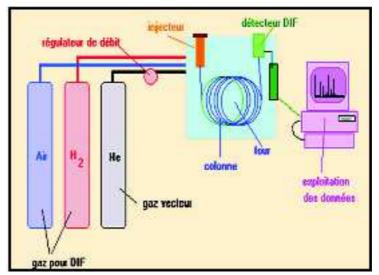


Figure n°12: Schéma de la chromatographie en phase gazeuse (STAGMULDER (1980), DIDIER et FOURNIER (1983); CHOVIN et MUNIER cité par LOISELEUR (1963), ROUESSAC et ROUESSAC (1992), KAMOUN (1987), PRADEAU et COHEN (1992)).

Principe de la chromatographie phase gazeuse :

Les échantillons à analyser sont dissous dans un solvant n'ayant aucune affinité pour les matériaux qui constituent la colonne. Ils sont transformés en vapeur dans une chambre d'injection préalablement chauffée à température élevée où ils sont volatilisés. De là, un gaz inerte dit gaz vecteur « N<sub>2</sub>H<sub>2</sub> », « HE » qui est la phase mobile, les fait migrer à travers une colonne (qui est la phase stationnaire) à l'intérieur de laquelle s'opère une séparation entre les différents constituants.

A la sortie, se trouve un détecteur où le passage de chaque soluté (les substances ou solutés sont entraînés à des vitesses variables et sont donc séparées) est traduit par un signal électrique. Ce courant est mesuré en continu sur un enregistreur en fonction du temps, ce qui permet d'obtenir le « chromatogramme » où chaque constituant correspond à une augmentation du courant symbolisé par un pic. Les solutés peuvent être identifiés par spectroscopie (Infra Rouge, Ultra Violet, Spectrographie de masse).

# III-Chapitre III Les huiles essentielles en tant que biopesticides

#### III-I - INTRODUCTION

L'utilisation des insecticides chimiques pour contrôler les ravageurs des différentes cultures a beaucoup d'avantage, leur rapidité d'action, persistance ainsi que le large spectre de leur action font d'eux le moyen de lutte le plus préféré chez les agriculteurs. Cependant, la plupart d'entre eux sont toxiques sur les mammifères y compris l'homme, et nocifs à l'environnement par les déséquilibres biologiques et écologiques qu'ils occasionnent. Pour cette cause, plusieurs molécules ont été retirées du marché mondial des pesticides. Ces

produits sont remplacés par des Insecticides botaniques tels que, la roténone, le Pyrèthre, le Neem. Ce dernier est un répulsif à large spectre d'action, un régulateur de croissance et un insecticide qui peut avoir un effet systémique sur la plante, la rendant désagréable au goût pour des insectes. Il s'est avéré efficace contre le doryphore, le ver de l'épi de maïs, la chrysomèle rayée du concombre, l'altise, le puceron, la mineuse des feuilles, le thysanoptère et la mouche blanche (SINGH et al., 1980).

Afin de minimiser les risques des produits dont l'utilisation est favorisée, Les scientifiques ont abouti dans leurs travaux à des formulations à base d'huiles essentielles obtenues par la distillation de différents organes de certaines plantes aromatiques.

L'utilisation traditionnelle des plantes dans la lutte contre les déprédateurs des denrées stockées, et en tant que répulsives des insectes volants dans les maisons a fait preuve de son efficacité, c'est ce qui a été la base des recherches actuelles qui ont démontré que les huiles essentielles et leurs constituants sont toxiques sur un grand nombre d'insectes par contact et fumigations, mais également, elles ont une action antibactérienne, antivirale et antifongique prouvée.

#### III-2- ACTIVITE BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES ET DE LEURS CONSTITUANTS

#### III-2-1- Activité insecticide

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, par ingestion et par fumigation a été bien démontré. Contre les déprédateurs des denrées entreposées, plusieurs études ont été réalisées sur l'efficacité des huiles essentielles. A titre d'exemple EL-NAHL et al., en 1989 avaient testé l'effet toxique des vapeurs de l'huile essentielle d'Acorus calamus L. de l'Inde, ils avaient trouvé que Callosobruchus chinensis L. était le plus sensible suivi de Sitophilus granarius L., Sitophilus orysae L., Tribolium confusum et Rhyzoperta dominica F.. Dans cette expérimentation, le facteur influençant sur l'efficacité des vapeurs était la durée d'exposition au film toxique.

Contre la bruche *Acanthoscelides obtectus* d'autre essais ont été entrepris, parmi 22 huiles essentielles celle de *thymus serpyllum* (riche en phénols : thymol et carvacrol) et *Origanum majorama* (riche en terpinen-4-ol) étaient les plus efficace (REGNAULT-ROGER et al.,1993).

Les huiles essentielles des plantes appartenant aux genres *Chenopodium, Eucalyptus*, ont témoigné de leur efficacité insecticide, la poudre de *Chenopodium ambrosioides* était testée sur six ravageurs de denrées stockées (*Callosobruchus maculatus, C.chinensis, Acanthoscelides obtectus, sitophilus granarius, S.zeamais et Prostephanus truncatus*) une concentration de 0,4% provoqua la mortalité de plus de 60% des bruches après deux jours de traitements (TAPONDJOU et *al.*, 2002).

En 2003, TAPONDJOU et al., montrèrent l'efficacité de l'huile essentielle de la même plante, en plus de celle d'*Eucalyptus saligna* sur *Callosobruchus maculatus*, et *C. ambrosioides*. Ces deux huiles exercent également un effet répulsif sur la bruche de niébé.

L'analyse chimique de ces deux huiles essentielles montre qu'elles contiennent de l'ascaridole et l'α-pinène, deux substances connues pour leurs propriétés insecticides.

En Algérie, des travaux ayant le même axe de recherche ont été entrepris. En 2001, KECHOUT avait testé l'efficacité de l'huile essentielle du Thym sur *Sitophilus orysae* L., traduite par un taux de mortalité évalué à 85%.

Sur *Rhyzopertha dominica* (Fabricus), des essais sur l'efficacité des huiles essentielles de romarin et de thym, par contact et par inhalation, ont encore prouvé l'effet insecticide de ces deux huiles. En effet, le romarin s'est montré efficace par contact à la dose de 1,384mg/cm<sup>2</sup> en provoquant 89,72% de mortalité alors que le thym à la même dose donna un taux de 100%. Par inhalation, les enregistrements des mortalités ont dévoilé l'efficacité du thym qui dépassait celle du romarin : 40,93% contre 38,92% à la plus forte dose 1,44 mg/cm<sup>3</sup>. Les essais ont également montré que la répulsivité du thym est plus importante que celle du romarin, elle est estimée à +50% et + 46,66% respectivement (GUEDOUI, 2003).

En agriculture, les huiles essentielles se sont montrées efficaces contre les ravageurs des cultures. En effet, des études récentes ont mis en évidence l'efficacité par fumigation des essences du cumin (*Cuminum cyminum*), de l'anis (*Pinpinella ansium*), de l'origan (*Origanum syriacum* var. Bevanii) et d'*Eucalyptus camaldulensis*sur le puceron du Cotton *Aphis gossypii* et l'araignée rouge *Tetranychus cinnabarinus*. (TUNI et SAHINKAYA, 1998). LEE *et al.*, (1997) travaillèrent sur la toxicité d'une gamme de composants des huiles essentielles sur le chrysomèle des racines de maïs *Diabrotica virgifera* et *Tetranychus cinnabarinus*. Plus récemment ils ont obtenu de bons résultats sur l'effet par ingestion d'un certain nombre de monoterpènes sur la pyrale de maïs *Ostrinia nubilalis* ont été relevé (LEE et *al.*, 1999).

En plus des insectes d'intérêt agricole, d'autres d'hygiène publique font partie de la liste. En effet, les H.E appliquées par contact sur la blatte américaine *Periplaneta americana*, la blatte germanique *Blattela germanica* et la mouche domestique *Musca domestica* ont provoqué des renversements sur le dos et des létalités significatifs (NGOH *et al.*, 1998, RICE et COATS, 1994, COATS et *al.*, 1991).

Une émulsion constituée d'un mélange d'eugénol, de thymol et de phenethylpropionate comme matières actives, s'est révélée avoir en plus de l'effet toxique vis-à-vis du puceron vert du pêcher, un effet sur son comportement alimentaire.

#### Site d'action :

L'efficacité des huiles essentielles évoqua chez les chercheurs la curiosité de connaître leur site d'action chez les insectes pour mieux cibler leur but ; dans ce sens, des expérimentations ont montré que les monoterpènes chez la blatte inhibent la cholinestérase, les groupements soufrés agissent sur les canaux à potassium (ISMAN *et al.*, 2001).Le travail de ENAN *et al.* (1998), sur la blatte américaine prouva la neurotoxicité des huiles essentielles par leur interférence avec les transmetteurs de l'octopamine chez les arthropodes. La combinaison <sup>3</sup>H-octopamine était significativement affectée par la présence des huiles essentielles.

Le manque des transmetteurs d'octopamine chez les vertébrés fait que les mammifères aient une profonde séléctivité aux huiles essentielles en tant qu'insecticide, de ce fait, le système octopamenergique chez les insectes représente une cible importante pour le contrôle des insectes.

#### III-2-2- Activité acaricide

Phytophages ou ectoparasites, les acariens ont été la cible de plusieurs essais testant l'efficacité des huiles essentielles pour une éventuelle utilisation dans la lutte contre ces déprédateurs.

Contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles, plusieurs travaux ont été menés sur l'effet toxique de certaines essences et de leurs composant (CALDERONE *et al.*, 1997). Parmi ces derniers, c'est le thymol qui a engendré le meilleur résultat, en addition, il a été démontré que le traitement répétitif en dehors de la période de miellée n'augmente pas les résidus dans le miel et reste sous le seuil de détection gustative qui se situe entre 1,1 et 1,6 mg/kg alors que pendant la période de miellée, les résidus du thymol peuvent modifier le goût du miel, seulement, une concentration allant jusqu'à 50 mg/Kg est tolérée par la FAO et reconnue sans danger puisque tout comme le menthol et le camphre, le thymol a le statut GRAS (Generally reconized as safe ).

Il a été prouvé jusqu'à présent qu'un seul traitement à base d'huile essentielle ou d'un composé est généralement suffisant pour maintenir la population de l'acarien Varroa au dessous du seuil de dégât économique pendant toute la saison (IMDORF et al., 1999).

Toujours dans la lutte contre la varoatose, d'autres essais ont été entrepris sur l'efficacité de l'huile de neem qui s'était montré d'une grande efficacité, les mortalités enregistrées étaient de 100% à une concentration de 75% (SCHNEK et *al.*, 2001).

Dans la préservation des denrées stockées contre les attaques des acariens des tests sur l'efficacité des huiles essentielles ont été réalisés dans ce sens, SANCHEZ-RAMOS et al., en

2000 avaient travaillé sur 13 monoterpènes parmi lesquels les fumigations du pulegone, linalool, fenchone, menthone, α-terpinène et δ-terpinène s'étaient avérées en possession d'un grand effet adulticide et larvicide contre *Tyrophagus putrescentiae* (Schan K). De ces sept composés, le pulegone, le menthone, le linalol, et le fenchone provoquaient 90% de mortalité à une concentration de 14ul /l au moins.

L'huile essentielle de cannelle a été utilisée pour lutter contre les infestations d'acariens dans les produits comestibles tels que les raisins, les fraises et les patates douces, alors que d'autres huiles telles que celle de l'arbre à thé, de citron, de cèdre, d'eucalyptus, de citronnelle, de géranium, de clou de girofle et de lavande sont souvent employées pour lutter contre les parasites du bétail.

Dans le domaine vétérinaire, des expérimentations ont dévoilé le grand effet acaricide des huiles essentielles. En 2002, CHAGAS et al., avaient testé l'action des essences d'Eucalyptus citriodora, Eucalyptus globulus et Eucalyptus stageriana sur la tique du bétail Boophilus microplus, les résultats obtenus étaient hautement significatifs puisque ces essences s'étaient montrées toxiques.

TEDONKENG et *al.*, en 2004, avaient étudié la composition chimique et l'action acaricide des huiles essentielles issues des feuilles de *Chromolaena odorata* et *Eucalyptus saligna* surla tique de la chèvre naine de Guinée *Rhipicephalus lunulatus* (Neumann)dans ces essais, l'augmentation des doses engendrait celle des mortalités estimées à la plus faible dose (0,08 ml/cm<sup>2</sup>) à 60% pour *E. saligna* et 77,5% pour *C. odorata*après huit jours d'exposition au traitement.

CHIASSON et al. (2001), avaient testé les propriétés acaricides de l'huile essentielle d'Artemissia absinthium (Armoise) et Tanacetum vulgare sur Tetranychus urticae obtenues

par entraînement à la vapeur, les taux de mortalités étaient significatifs : à la plus faible dose (1%), *A. absinthium* provoqua 42,1% alors qu *T. vulgare* engendra 52,9%, un taux qui s'élève à chaque fois qu'on augmente la dose.

En Algérie, CHOUAT en 2004 réalisa des tests sur l'efficacité des huiles essentielles d'Artemissia alba (Armoise blanche) et de l'Origanum glandulosum (Origan) sur les formes mobiles et les œufs de *Tetranychus cinnabarinus*. Les résultats étaient significatifs pour les deux stades, le test sur les formes mobiles arrêta 0,25% la dose la plus faible qui donna des mortalités de 61,11% et 73,62% pour l'Armoise blanche et l'Origan respectivement. Alors que pour les œufs, la létalité de la même dose fut traduite par un taux d'œufs non éclos de 77,27% pour l'Armoise blanche et 69,54% dans le cas de l'Origan.

#### III-2-3- Activité fongicide et bactéricide

L'investissement dans l'étude de l'activité fongicide et bactéricide des huiles essentielles et de leurs constituants pré date celui de la découverte de leur propriété insecticide. SINGH et al., en 1980, projeta la lumière sur l'effet fongicide de cinq huiles essentielles sur 22 espèces de champignons parasitant aussi bien les plantes que les humains. Une année plus tard, KURITA et al., détectèrent 40 composants ayant un effet contre les spores de 07 espèces de champignons alimentaires. En 1997, WILSON et al., dévoilèrent l'efficacité de 49 huiles essentielles sur Botrytis cinerea.

En 2002, BELGHAZI et al., avaient testé l'effet antifongique de la menthe pouliot sur deux organismes *Pinicilium* et *Mucor*. Les résultats avaient indiqué que la quantité minimale inhibitrice pour les deux souches est de 20%.

En 2003, DEFEO et al., avaient étudié la composition chimique de l'huile essentielle du thym (*Thymus spinulosus*) et réalisé des tests biologiques sur son activité antibactérienne contre 08 souches de bactérie dont 04 gram+ et 04 gram-, qui s'est exprimé par l'inhibition de la croissance de ces dernières à une concentration de 10 mg/ml. Les études ont montré que l'activité fongicide des huiles essentielles est fortement liée aux monoterpènes et plus précisément aux phénols à citer le thymol, le carvacrol et l'eugénol. responsables également des propriétés anti-bactériennes, en addition les monoterphénol comme le géraniol, linalool, citronnelle, thjanol, terpinéol et menthol, les aldéhydes manifestent une certaine puissance antibactérienne due au néral, géranial, citronnellal et cuminal.

Contre les champignons, les alcools et les lactones sesquiterpèniques sont d'excellents inhibiteurs, ils peuvent émaner de la cannelle, clou de girofle, eucalyptus citronné, géranium, rosat, niaouli, plamarosa, ravensare, tagète, romarin-cinéole et calophyllum.

#### III-3- IMPACT SUR L'ENVIRONNEMENT ET LA SANTE HUMAINE

Probablement, la principale cause pour laquelle les huiles essentielles et/ou leurs constituants sont utilisés dans la protection des cultures est leur faible toxicité sur les mammifères. Quelques huiles essentielles pures sont légèrement toxiques avec une valeur de la dose orale aiguë DL<sub>50</sub> évaluée à 2-3 g/kg<sup>-1</sup> (carvacrol, pulégone).

Un insecticide constitué d'un mélange de composants ne provoque pas de létalité lorsqu'il est administré par ingestion à des rats, à une dose de 2 g/kg<sup>-1</sup>.

Les tests de toxicité de l'eau sur de jeunes truites ( $Oncorhynchus\ mykiss$ ) indiquent qu'après 96 heures, les valeurs de la  $CL_{50}$  de l'eugénol sont 1500 fois moins toxiques

qu'un pyréthrinoïde et 15 fois moins toxique que l'Azinphosmethyl qui est un insecticide organophosphoré (STROCH et al., 1998).

En addition, l'eugénol et d'autres constituants ne sont pas persistants dans l'eau et dans le sol, sous les conditions aérobics à 23°C, l'α-terpinéol se dégrade de moitié après 30-40 heures, et complètement après 50 heures (MISRA et PAVLOSTATHIS, 1997).

L'eugénol est complètement dégradé en acides organiques communs par les bactéries du sol du genre *Pseudomonas* (ROBENHORST, 1996).

Pour les résidus des huiles essentielles dans les aliments, notamment les fruits et légumes, le souci est atténué par le fait de rendre évident l'effet bénéfique des constituants des huiles essentielles pour la santé humaine lorsqu'ils sont introduits dans le régime alimentaire (HUANG *et al.*, 1994).

# III-4- COMMERCIALISATION DES PESTICIDES A BASE D'HUILE ESSENTIELLE

Suite à l'invention des formulations à base de neem et d'autres plantes, trois barrières étaient identifiées lors de leur commercialisation : Faiblesse des ressources naturelles en premier, besoin de standardisation chimique et qualité du contrôle en second et enfin, difficulté de registration.

#### III-5- GENERALITES SUR LES PLANTES CHOISIES POUR NOS TESTS.

#### III-5-1- Le Romarin : Rosmanirus officinalis L,

Le romarin appartient à la deuxième série de la famille des **labiées** qui en compte six. Cette famille, l'une des plus importantes de la flore d'Algérie, compte plus de 200 genres et 3500 espèces (BOELENS, 1985).

Le romarin, *Rosmarinus officinalis* Linnaeus, signifiant « rose de la mer » était considéré comme plante sacrée. (RICHARD, 1992).

Le romarin est répandu en Espagne, en Italie, sur la côte Adriatique et en Afrique du nord. En Algérie, c'est l'une des plantes les plus populaires, et les plus répandues. Il affectionne les sols calcaires marneux, accompagné d'espèces caractéristiques de la forêt de pin d'alep.

Exigeant une forte luminosité, des hivers doux et des étés secs, il ne craint pas la sécheresse, mais redoute le gel et le froid (BOUDJADA, 1996).

Le romarin est un arbuste rameux, ornemental, qui atteint une hauteur allant de 50 cm à 1,5m, aromatique, à feuilles persistantes, opposées, linéaires, sessiles, entières, à bords enroulés, vert foncé luisant au dessus et blanc feutré au dessous, tonique, les inflorescence sont en grappe courte axillaires, les fleurs d'une hauteur environ de 1 cm, le calice purpurin, campanulé, duveteux, la corolle à tube exsert, limbe bilabié bleu violacé et blanc pâle, deux étame plus longues que la corolle, le fruit est une nucule sèche et lisse.(fig. 13)







Figure n°13 : Le Romarin (original)

#### III-5-2- Le Thym: Thymus palescense

Thymus est l'un des huit genres les plus importants de la famille des Labiées qui comporte plus de 220 genres, bien que le nombre d'espèces de ce genre change selon le point de vue taxonomique; si nous adoptons un caractère synthétique, il comporte plus de 200 espèces.

Le nom thym provient du mot Grec « Thymos » qui veut dire odeur, et à ce titre le thym est très largement utilisé en qualité de plante aromatique, en particulier dans la cuisine méditerranéenne en tant que condiment. (RICHARD, 1992).

Les Sumériens et les égyptiens de l'antiquité l'utilisaient pour embaumer leurs morts (processus de momification). Chez les romains, on faisait brûler du thym pour purifier l'air et éloigner les animaux nuisibles, on s'en servait aussi pour aromatiser les fromages et boissons alcoolisées etc.... Le thym est distribué dans le vieux continent, sur les cotes du Groenland et dans la région macaroni sienne (les canaries, Madère et les Açores).

Le thym est un petit sous arbrisseau en touffe de 10 à 30 cm de haut, aux tiges ramifiées tortueuses et ligueuses peu touffues dont les rameaux grisâtres compacts sont dressés. Les feuilles sont sessiles, petites et étroites de forme lancéolée, de couleur vert blanchâtre et cotonneuses blanchâtres dessous. Les fleurs rosées ou blanches, petites, en épis à l'aisselle des feuilles supérieures, ont un calice bossu à poils durs et une corolle à deux lèvres et quatre étamines saillantes. Les fruits sont des tétrakènes bruns et glabres (fig.14).



Figure n°14 : le Thym (original)

#### II-5-3 - La Menthe

La menthe verte *Mentha viridis*, appartient à la famille des labiées et désigne un genre de dicotylédones gamopétales.

La menthe verte est une plante vivace cultivée dans le monde entier, son parfum est plus frais et moins fort. C'est une plante vivace qui aime les sols humides mais ensoleillés ou semi ombragés, il existe environ 20 espèces de menthe réparties dans le monde entier et dont plusieurs sont cultivées. On la trouve dans tous les jardins. Il existe beaucoup

d'espèces sauvages, les plus connues sont la *Mentha arvensis* (des champs) la *Mentha aquatica* (aquatique) et la *Mentha pulegium* (Pouliot).

Le nom Mentha vient de Menthê, nom grec d'une nymphe dont s'éprit Hadès, Dieu des enfers. Perséphone, sa femme, les surprit en pleins ébats amoureux, et furieuse, jeta Mintha par terre la piétina, l'écrasa et elle se transforma en plante.

Les menthes ont été utilisées de tous temps à des fins culinaires ou médicinales mais il semble que seul le pouliot ait été cultivé dans les jardins carolingiens.

C'est une herbacée rustique, au système radical envahissant, elle étend son territoire par un système souterrain de stolons. Son port est dressé et atteint de 30 à 60cm. Ses feuilles sont lancéolées, dentées, vert clair, assez larges, environ 8cm de long, ses tiges sont quadrangulaires et rougeâtre au sommet desquelles apparaissent des petites fleurs roses ou lilas et qui sont réunies en épis coniques (AIT OUZZOU, 2002) (fig.15).



Figure n°15 : Menthe verte (original)

#### II-5-4-Le laurier noble : Laurus nobilis

Laurus nobilis appartient à la famille des Lauracées, une famille comportant 200 genres, qui joue un très grand rôle dans la classification des angiospermes.

Le laurier noble ou laurier-sauce, laurier vrai, laurier franc, laurier des cuisinières ou encore laurier d'Apollon, est originaire du basin méditerranéen, pousse dans les régions proches du littoral et de climat tempéré. Utilisées en cuisine, les feuilles entrent dans la composition du bouquet garni comme aromate où il avoisine le thym, l'ail, et le persil et favorise la digestion, l'huile grasse issue de ses fruits est utilisée en savonnerie.

Chez les Grecs et les <u>Romains</u> anciens, l'usage s'était établi de couronner de laurier les poètes et les vainqueurs.

Le laurier est un <u>arbuste</u> mesurant de 2 à 6 m de haut, à <u>tige</u> droite et grise dans sa partie basse, verte en haut. Les <u>feuilles</u> de forme lancéolées, alternes, coriaces, à bord ondulé, sont vert foncé sur leur face supérieure et plus clair à la face inférieure. Elles dégagent une odeur aromatique quand on les froisse. Les <u>fleurs</u>, blanchâtres, groupées par 4 à 5 en petites <u>ombelles</u>, apparaissent en mars avril. C'est une plante <u>dioïque</u> (fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés). Le <u>fruit</u> est une petite <u>baie</u> ovoïde, noir violacé et nue (fig.16).

Figure n°16 : laurier noble (original)

# Partie II : Partie expérimentation

# I- Chapitre I: Essais biologiques

#### I-I -OBJECTIF

L'objectif de nos essais est d'évaluer l'efficacité des huiles essentielles de la Menthe verte, du laurier noble, du romarin et du thym au laboratoire sur les formes mobiles et les œufs de *T.cinnabarinus*, par contact et par inhalation. L'étude de leur durée d'action (Rémanence) est également traitée.

## **I-2-MATERIEL ET METHODES**

#### **I-2-1-MATERIEL**

# I-2-1-1-Matériel animal

L'espèce ciblée par nos essais est *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval 1867. La souche est récoltée sur une plante ornementale *lochroma tubulosa ( Solanaceae )* présente dans le jardin botanique de l'Institut Agronomique d'El-Harrach, et qui n'est pas soumise aux traitements phytosanitaires.

## I-2-1-2-Matériel végétal

- l'élevage de masse et les essais sont effectués Haricot nain, (*Phaseolus vulgaris*) de la famille des Fabacées, variété cotender cultivée sous serre à la station horticole de l'Institut National Agronomique d'El-Harrach.
- Les huiles essentielles extraites, pour réaliser nos essais, sont à base des plantes citées dans le tableau 1 suivant :

Tableau n°1 : plantes utilisées pour l'extraction des huiles essentielles

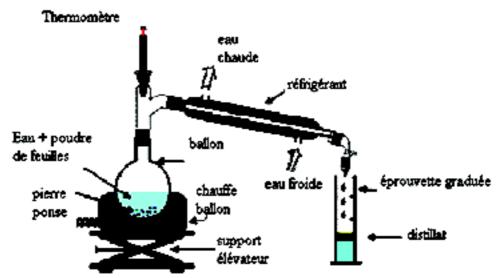
Nomcommun	Nom scientifique	Famille	Origine
Romarin	Rosmarinus officinalis	Labiatae	station horticole de l'INA El-
			Harrach
Laurier noble	Laurus nobilis	Lauraceae	Tizi-ouzou
Menthe	Mentha viridis	Labiatae	Blida
Thym	Thymus palescens	Labiatae	Tablat

#### I-2-1-3-Matériel de laboratoire

Pour effectuer nos essais, nous avons utilisé des boîtes de pétri en verre de 9 cm de diamètre, du coton hydrophile, des pissettes contenant de l'eau distillée, des pipettes pour le dosage des produits utilisés, des micro seringues de 10µl pour les essais de contact et d'inhalation, un emporte pièce pour la réalisation des disques de feuilles,

des pinces, des verres de montre des cristallisoirs des pinceau et aiguille montée pour le prélèvement des acariens, une loupe binoculaire pour les observation, un compteur manuel pour le comptage des mortalités, des pots à vice de 43,96 cm<sup>3</sup> du papier filtre et de la Moustiquaire.

Pour l'extraction des H.E., nous avons utilisé un appareil d'extraction par hydrodistillation qui est constitué d'un support élévateur ; un chauffe ballon réglable d'une capacité de 02 litres ; un ballon à fond rond rodé d'une capacité de 02 litres ; un col de cygne ; une allonge (colonne ou pare- gouttes) ; un thermomètre en tête de colonne ; un réfrigérant droit ; un Erlen Meyer rodé d'une capacité de 500 ml ; statif ; noix et pince. L'ensemble du montage est fixé sur des supports sauf le chauffe ballon et le ballon qui sont munis d'un support élévateur pour faciliter à la fois, leurs chargements et déchargements (Fig. 17).



**Figure n°17 :** Schéma général de dispositif expérimental d'extraction par hydrodistillation (BOUSBIA, 2005).

#### I-2-2- METHODES

#### I-2-2-1 - Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles

Le moyen le plus approprié pour extraire l'huile essentielle est la distillation à la vapeur d'eau. La vapeur d'eau, produite par un générateur, traverse les plantes, Chargée des précieuses molécules, elle est ensuite ramenée à l'état liquide par réfrigération. Le mélange d'eau et d'huile essentielle est recueillie dans un Erlenmeyer où il se va subir un relargage, une décantation et un séchage.

#### Entraînement à la vapeur

Dans le ballon, nous faisons bouillir 100 g de feuilles broyées des différentes plantes choisies dans 250 ml d'eau distillée, nous ajoutons, dans le bouilleur, quelques grains de pierre ponce pour éviter toute formation de mousse. Après fermeture du montage et mise en marche du chauffe ballon, nous réglons la température d'ébullition à 100°C, en s'assurant que cette dernière est maintenue dans la vapeur condensée en tête de colonne et au fond du bouilleur grâce à un thermomètre.

#### Relargage

Dans une ampoule à décanter et afin de récupérer les molécules odorantes dissoutes dans le distillat, on réalise un relargage par l'ajout de quelques cristaux de chlorure de sodium NaCl, après agitation, tout en prenant soin de dégazer, pratiquement toutes ces molécules passeront dans la phase organique, cela permettra la séparation absolue des deux phases.

#### Décantation

Le mélange précédant est laissé reposer, pendant quelque minutes, la phase organique, à densité faible, surnagera sur la phase aqueuse, cette dernière est recueillie en premier dans un bêcher, pour pouvoir ensuite récupérer l'huile dans autre bêcher.

#### Séchage et filtration

Dans le but d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été entraînée avec la phase organique lors de la décantation, on procède à un séchage au moyen du sulfate de sodium (Na $_2$ SO $_4$ ) anhydre, ensuite, pour séparer l'huile de ce dernier, on réalise une filtration par papier filtre. L'huile est ensuite conservée à une température allant de 0 à 6°C dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour éviter toute dégradation .

Les rendements des huiles essentielles obtenus à partir des quatre plantes sont :

Romain: 1,4%, Thym: 2%, Menthe: 1,6%, Laurier noble: 0,5%

# I-2-2-Test d'efficacité globale des huiles essentielles sur les formes mobiles de T. *cinnabarinus*

#### Préparation des doses :

A partir des huiles essentielles obtenues, nous préparons les doses à tester après dilution de celles ci selon une progression géométrique de raison de 2.

Pour les tests d'efficacité sur les formes mobiles et les œufs, 5 doses (0,125 ; 0,5; 1; et 2%) ont fait l'objet du test. Dans les travaux de CHIASSON et al. (2001), sur l'effet acaricide de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* et *Tanacetum vulgare* sur *T. urticae*, lesconcentrations testées sont de 1, 2, 4 et 8%, les solutions sont à base d'un émulsifiant et d'un alcool dénaturé dont le rôle est d'assurer la miscibilité et la conservation de l'H.E dans l'eau. Dans notre travail et vue la non disponibilité des émulsifiants, une micro émulsion du type H/E (huile dans l'eau) où la dilution faite à l'eau distillée, a été préparée pour avoir les cinq doses. L'agitation avant chaque traitement, permet l'homogénéisation de la solution étant donnée la composition chimique des huiles essentielles qui comporte, à côté des composants hydrophobes, d'autres hydrophiles (notamment les alcools), permettant de ce fait, un recouvrement homogène du substrat traité.

#### · Protocole expérimental :

L'essai est mené au laboratoire sous conditions de  $25^{\circ}$ C  $\pm$   $5^{\circ}$  de température et  $75\% \pm 5\%$  d'humidité, sur des disques de feuilles d'Haricot de 3 cm de diamètre, réalisés à l'aide d'un emporte pièce. Les disques sont trempés dans les différentes solutions dans des verres de montre puis égouttés et placés dans des boîtes de Pétri à l'aide d'une pince, sur du coton imbibé d'eau afin de prolonger la vie des disques. Sur ces derniers 30 formes mobiles sont introduites. Pour empêcher la fuite des acariens le coton est relevé autour des disques (HELLE et OVERMEER, 1985). Vu la mobilité de ces acariens qui rend les résultats des essais inconstants, il est préférable de les refaire plusieurs fois (COULON, 1958), pour cette

fin, le nombre de répétition est de 10. Un témoin à l'eau distillée avec autant de répétition est réalisé. Le dénombrement des mortalités de *T. cinnabarinus* est effectué 24, 48,96 et 192 heures après le traitement.

## I-2-2-3 - Test d'efficacité des huiles essentielles sur les œufs de T.cinnabarinus

#### Protocole expérimental :

Au laboratoire, plusieurs femelles de *T. cinnabarinus* sont placées sur des disques d'haricot afin d'obtenir des pontes d'un même âge et de moins de 24 heures. Le nombre d'œufs par répétition est de 50. Les femelles sont éliminées ainsi que les œufs en excès.

Un trempage des disques contenant les œufs a lieu dans les différentes solutions pendant quelques secondes, permettant ainsi au produit d'être en contact avec les œufs. Les disques traités sont retirés et placés après séchage dans des boîtes de pétri sur du coton imbibé d'eau (HELLE et OVERMEER, 1985). L'observation des œufs est effectuée deux fois par jour, les œufs non éclos au bout de 5 jours sont considérés comme non viables (MOMEN et AMER, 1994), le nombre de répétition est de 10 pour chaque dose et un témoin à l'eau distillée avec autant de répétitions est réalisé.

# I-2-3-Evaluation de la toxicité des huiles essentielles sur les formes mobiles de *T. cinnabarinus* par contact

#### Préparation des doses:

Afin d'effectuer cet essai, nous avons préparé cinq doses en diluant chaque fois dans  $0.6\,\mathrm{ml}$  d'acétone (volume nécessaire pour le recouvrement du fond de la boite de pétri) les volumes respectifs de 0,62; 1,25; 2,5; 5 et  $10\,\mathrm{\mu l}$  de l'huile essentielle pour obtenir respectivement et après évaporation du solvant les doses figurant dans le tableau n°2. A l'aide d'une micro seringue, chacune des solutions ainsi préparée est uniformément répandue sur le fond d'une boîte de pétri en verre de  $9\,\mathrm{cm}$  de diamètre ( $63.6\,\mathrm{cm}^2$ ).

Produits	$\mathbf{D_1}$	$\mathbf{D}_2$	$\mathbf{D}_3$	$\mathbf{D}_4$	$\mathbf{D}_{5}$
Romarin					
Thym					
Menthe	0,013	0,019	0,039	0,078	0,157
Laurier					

Tableau n° 2 : Doses d'utilisation en μl/ cm<sup>2</sup>

#### · Protocole expérimental :

Le test d'évaluation de la toxicité par contact des différentes huiles essentielles est réalisé en introduisant 10 adultes d'acarien de *T.cinnabarinus* dans les boîtes de Pétri préalablement

traitées. Pour une meilleur maîtrise de l'observation, les boites sont recouvertes de moustiquaire collé hermétiquement afin d'empêcher la fuite des acariens. Le nombre de répétition est de 10 pour chaque dose, les mortalités sont comptées toutes les 24 heures pendant huit jours. Un témoin à l'acétone est réalisé avec autant de répétitions.

# I-2-4-Evaluation de la toxicité des huiles essentielles sur les formes mobiles de *T.cinnabarinus* par inhalation

#### Préparation des doses :

La méthode de préparation des doses testées est la même que celle adoptée pour le test d'efficacité des huiles par contact sauf que la dilution était faite dans un volume d'acétone de 0,05ml. Les doses testées sont : 0,014 ; 0,02 ; 0,05 ; 0,11 et 0,22  $\mu\text{l/cm}^3$ 

Les solutions obtenues servent à imprégner des disques de papier filtre de 3 cm de diamètre, que nous plaçons dans le couvercle d'un pot à vis de 43.96 cm<sup>3</sup>, l'évaporation totale du solvant permet d'obtenir les doses voulues

#### Protocole expérimental :

Après évaporation totale du solvant, on introduit dans les pots à visse 30 individus adultes de *T.cinnabarinus*, le couvercle est vissé hermétiquement.

Le dénombrement des mortalités et réalisé 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 et 120 minutes après traitement pour estimer l'effet choc du produit. L'évaluation des létalités s'est étalé jusqu'au 8<sup>ème</sup> jour, 10 répétitions sont réalisées pour chaque dose d'huile essentielle, y compris le témoin traité au solvant pur.

#### I-2-5-Evaluation de la durée d'action des huiles essentielles

#### Dose utilisée :

Pour le test de rémanence, nous avons choisi de tester la durée d'action de la dose provoquant 50 % de mortalité (soit la dose moyenne), dans le test d'efficacité globale des huiles essentielles sur les formes mobiles de *T. cinnabarinus*.

#### · Protocole expérimental :

Le substrat et le mode de traitement utilisés pour effectuer ce test sont les mêmes que pour les tests d'efficacité globale. Nous introduisons 30 formes mobiles de *T cinnabarinus*. Les comptages des mortalités se font toutes les 24 heures puis nous éliminons les survivants et introduisons 30 nouveaux individus pris de l'élevage de masse. Cette opération est répétée jusqu'à ce que les huiles essentielles ne provoquent plus de mortalité. Le nombre de répétition était de 10 pour les doses et le témoin traité à l'eau.

#### I-3 - RESULTATS

L'efficacité des différentes doses des huiles essentielles est exprimée en pourcentage de mortalité, qui est corrigé au moyen de la formule d'ABBOTT, (1925).

$$Mc = \frac{Mo - Me}{100 - Me} \times 100$$

Où : Mo = mortalité enregistrée dans les lot traités (%)

Me = mortalité enregistrée chez le témoin (%)

Mc = mortalité corrigée (%)

Le pourcentage des mortalités corrigées est transformé en probit et sont représentés graphiquement en fonction des logarithmes des doses (x100) afin d'évaluer la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) ou, des logarithmes des temps pour estimer le temps létal 50.

# I-3-1- Efficacité des huiles essentielles sur les formes mobiles de *T. cinnabarinus*

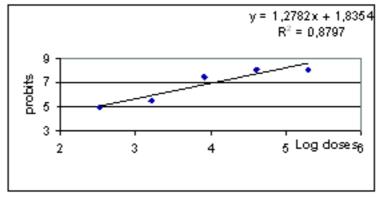
#### I-3-1-1- Le Romarin

Les résultats dans le tableau 3 suivant, montrent que, l'huile essentielle du Romarin a provoqué un pourcentage de mortalité corrigée allant de 48,02% à 100% au bout de 8 jours d'exposition et ce de la plus faible à la plus forte dose. Ces mortalités se sont échelonnées dans le temps. En effet au bout de 24 heures il a atteint 30,6,55,33,60,33% respectivement pour les trois premières doses. Les deux dernières doses sont à l'origine de 100% de mortalité pour ce même temps d'exposition. Après 48 heures les mortalités ont dépassé les 50% à toutes les doses à l'exception de la plus faible. Ces résultats sont confirmés par la  $DL_{50}$ .

Doses (%)	Log (dose x 100)	Temps	Mortalités Moyennes	%Mortalités corrigées	Probits
		24	9,2 ±1	30,67	4,49
D <sub>1</sub> =0,125	2,52	48	10,5 ±1,81	33,67	4,57
D1-0,125	2,24	96	13 ±2	37,50	4,68
		192	16,9 ±1,41	48.02	4,97
		24	16,6 ±1,41	55,33	5,13
D <sub>2</sub> =0,25	3,21	48	17,1 ±1,32	56,12	5,15
D2-0,25	2,21	96	19,5 ±1,64	61,40	5,29
		192	22,1 ±1,03	68,65	5,48
		24	18,1 ±1,56	60,33	5,25
D <sub>3</sub> =0,5	3,91	48	20,1 ±1,44	86,76	6,11
D3-0,5		96	22 ±1,60	97,45	6,94
		192	26 ±1,24	99,43	7,51
		24	30	100,00	8,09
D <sub>4</sub> =1	4,60	48	30	100,00	8,09
D <sub>1</sub> -1	4,00	96	30	100,00	8,09
		192	30	100,00	8,09
		24	30	100,00	8,09
D <sub>5</sub> =2	5,29	48	30	100,00	8,09
D <sub>3</sub> -2	3,43	96	30	100,00	8,09
		192	30	100,00	8,09
		24	0		
D <sub>0</sub> =Témoin		48	0,6 ±0,43		
		96	2,8 ±0,64		
		192	4,8 ±0,76		

Tableau n° 3 : Efficacité de l'Huile essentielle du Romarin

- La  $DL_{50}$ , calculée à partir de fonction de la droite de régression est de 0,12 % elle est très proche de la plus faible dose. (fig. 18)



**Figure n°18 :** DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle du Romarin

# I-3-I-2-Le Laurier

Doses (%)	Log (dose x 100)	Temps	Mortalités moyennes	%Mortalités corrigées	Probits
		24	10,7 ±1,21	35,67	4,62
D. =0.125	2.52	48	11,7 ±1,17	37,76	4,68
D <sub>1</sub> =0,125	2,52	96	14,5 ±0,94	43,01	4,82
		192	16,7 ±0,92	47,22	4,92
		24	11 ±1,17	36,67	4,65
D. =0.25	2.21	48	11,7 ±1,10	37,76	4,68
D <sub>2</sub> =0,25	3,21	96	15,1 ±1,03	45,22	4,87
		192	17,7 ±1,28	51,19	5,03
		24	20,2 ±1,26	67,33	5,44
D- =0.5	3,91	48	21,3 ±1,19	70,41	5,53
D <sub>3</sub> =0,5	3,91	96	24,5 ±1,08	79,78	5,83
		192	28,2 ±1,08	92,86	6,46
		24	30	100,00	8,09
D <sub>4</sub> =1	4,60	48	30	100,00	8,09
D4-1	4,00	96	30	100,00	8,09
		192	30	100,00	8,09
		24	30	100,00	8,09
D.=2	5 20	48	30	100,00	8,09
D <sub>5</sub> =2	5,29	96	30	100,00	8,09
		192	30	100,00	8,09
		24	0		
D <sub>0</sub> =T é	moin	48	0,6 ±0,43		
		96	2,8 ±0,64		
		192	4,8 ±0,76		

Tableau n° 4 : Efficacité de l'Huile essentielle de Laurier

L'huile essentielle du laurier a agit sur les formes mobiles de *T. cinnabarinus*, en effet dés la plus faible dose (0,125%) et au bout de 24 heures 30% des effectifs sont morts. Cette mortalité a augmenté en fonction des doses et du temps. Au bout de 8 jours d'exposition elle est de 51,19, 92,86 pour la 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> dose respectivement. Enfin pour les deux plus fortes doses, la mortalité est total dés le 1<sup>er</sup> jour.

La DL $_{50}$ , calculée à partir de fonction de la droite de régression est de 0,16 % elle se situe entre la 1  $^{\grave{e}re}$  et la 2  $^{\grave{e}me}$  doses (fig.19).

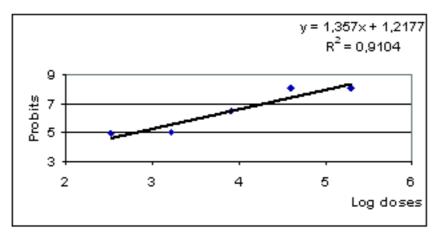


Figure n°19: DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle du Laurier

# I-3-I-3-La Menthe

Doses (%)	Log (Dose X UU)	Temps	Mortalité Moyenne	%Mortalité Corngée	Probits
		24	11,7 ±1,02	39	4,72
D <sub>1</sub> =0, 125	2,52	48	12,3 ±1,10	39,80	4,74
	2,74	96	15,4 ±1,47	46,33	4,9
		192	17,3 ±1,52	49,60	5,24
		24	11,3 ±1,31	37,67	4,67
D <sub>2</sub> =0, 25	3,21	48	12,1 ±1,15	39,12	4,72
2 0, 25		96	15,1 ±1,48	45,22	4,87
		192	18 ±1,62	32,38	3,03
		24	18,1 ±1,56	60,33	5,25
D <sub>3</sub> =0,5	3,91	48	20,1 ±1,44	66,33	5,41
D3-0,5		96	22 ±1,60	70,59	5,53
		192	26 ±1,24	84,13	5,99
		24	29,8 ±0,26	98,48	7,16
D <sub>4</sub> =1	4,60	48	30	100	8,09
24 1	-,00	96	30	100	8,09
		192	30	100	8,09
		24	30	100	8,09
D <sub>5</sub> =2	5,29	48	30	100	8,09
	7,27	96	30	100	8,09
		192	30	100	8,09
		24	0		
Do=Témoin		48	0,6±0,43		
		96	2,8±0,64		
		192	4,8±0,76		

Tableau n° 5 : Efficacité de l'Huile essentielle de la Menthe :

Selon le tableau n° 5 ci-dessus, l'huile essentielle de la menthe s'est révélée toxique pour les formes mobiles de *T. cinnabarinus* à toutes les doses où les mortalités sont de 49,60, 52,38, 84,13% et 100% respectivement de la plus faible à la plus forte dose. A chaque dose nous notons un échelonnement de la mortalité dans le temps.

La DL<sub>50</sub> calculée est de 0,152%, elle est comprise entre la D<sub>1</sub> et la D<sub>2</sub>. (fig.20)

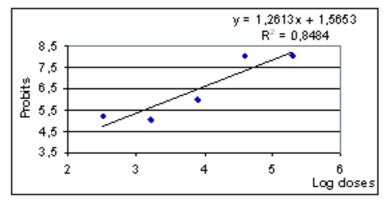


Figure n°20 : DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle de la Menthe

I-3-I-4 - Le Thym

Doses (%)	Log (Doses X 100)	Temps	Mortalités Moyennes	%Mortalités Corrigées	Probits
		24	16,3 ±1,40	54,33	5,1
D <sub>1</sub> =0,125	2,52	48	16,7 ±1,49	_	5,12
101-0,125	2,52	96	18.6 ±1,38	56,23	5,15
		192	18,8 ±1	58,09	5,20
		24	16,8 ±1,54	56,00	5,15
D <sub>2</sub> =0,25	3,21	48	17,2 ±1,57	56,46	5,16
D2-0,25	12,21	96	19,2 ±1,39	60,29	5,25
		192	22,1 ±1,15	68,65	5,48
		24	22,2 ±1,08	74,00	5,64
D-05	3,91	48	24,6 ±1,02	81,63	5,90
D <sub>3</sub> =0,5		96	29,1 ±0,61	96,69	6,82
		192	29,9 ±0,2	99,60	7,75
		24	30	100,00	8,09
D <sub>4</sub> =1	4,60	48	30	100,00	8,09
104-1	4,00	96	30	100,00	8,09
		192	30	100,00	8,09
		24	30	100,00	8,09
D₅=2	5,29	48	30	100,00	8,09
D, 2	2,22	96	30	100,00	8,09
		192	30	100,00	8,09
		24	0		
D₀=Témoin		48	0,6±0,43		
		96	2,8±0,64		
		192	4,8±0,76		

Tableau n° 6 : Efficacité de l'Huile essentielle du thym

D'après les résultats obtenus (tableau n° 6), l'huile essentielle du thym sont efficace contre les formes mobiles de *T. cinnabarinus* dés la plus faible dose. En effet, le taux de mortalité est de 54,33% après 24 heures d'exposition au traitement, après 8 jours, ce taux a atteint les 58,09%.

L'augmentation du pourcentage de mortalité est nettement fonction de celle des doses, après 8 jours d'exposition au traitement, la  $D_2$  a provoqué 68,65%, à la  $D_3$ ,  $D_4$ , et  $D_5$ , le pourcentage de mortalité est de 99,60, 100 et 100% respectivement.

Les droites de régression montrent que la  $DL_{50}$  est de 0,10 %, elle est proche de la  $D_1$  (fig. 21).

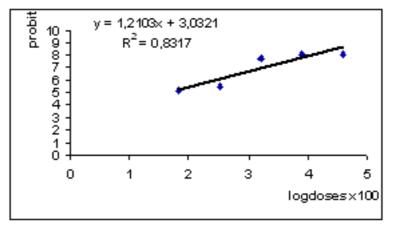


Figure n°21 : DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle du Thym

# I-3-2-Efficacité des huiles essentielles sur les œufs de *Tetranychus* cinnabarinus

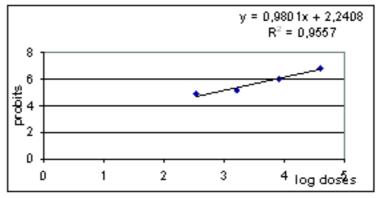
#### I-3-2-1- Le Romarin

Tableau n°7 : Efficacité de l'huile essentielle du Romarin sur les œufs de T. cinnabarinus

Doses (%)	Log (Dose x	Mortalité moyenne		%	Probits
	100)		Mortalité observ	<b>él∕d</b> ortalité corrigé	e
$D_1 = 0.125$	2,52	25,4□2,45	50,8	45,9	4,89
$D_2 = 0.25$	3,21	29,9 🗆 0,46	59,8	55,82	5,14
$D_3 = 0.5$	3,91	43,1□1,29	86,2	84,84	6,03
$D_4 = 1$	4,605	48,6□0,94	97,2	96,92	6,86
D <sub>0</sub> =Témoin		4,5□1,47	9		

D'après le tableau n° 7, l'huile essentielle du Romarin s'est montrée toxique vis-à-vis des oeufs de T. cinnabarinus dés la plus faible dose, en effet la mortalité est de 45,9, 55,82, 84,84 et 96,92% respectivement de la  $D_1$  à la  $D_4$ 

La DL $_{50}$  calculée à partir de la droite de régression est comprise entre la D $_{1}$  et la D $_{2}$ , elle est égale à 0,16 % (fig. 22).



*Figure n°22 : la DL*<sub>50</sub> *de l'huile essentielle du Romarin.* 

#### I-3-2-2 Le Laurier

Tableau n°8 : Efficacité de l'huile essentielle du Laurier sur les œufs de T.cinnabarinus

Doses (%)	Log (Dose x	Mortalité moy	e⁄ne	%	Probits
	100)		Mortalité observ	<b>él∕d</b> ortalité corrigé	е
$D_1 = 0,125$	2,52	15,7□2,19	31,4	24,6	4,31
$D_2 = 0.25$	3,21	26,3 4,23	52,6	47,91	4,96
$D_3 = 0.5$	3,91	40,4□2,09	80,8	78,90	5,8
$D_4 = 1$	4,605	48,5□0,73	97	96,70	6,84
D <sub>0</sub> =Témoin		4,5□1,47	9		

Après huit jours d'exposition, une forte mortalité est engendrée par la plus forte dose qui avait causé 96,70% de mortalité, suivit de la troisième dose avec 78,90 ; la  $D_2$  47,91 et La plus faible dose n'a été à l'origine que de 24,6 % de mortalité

La DL<sub>50</sub> calculée est proche de la D<sub>2</sub> et égale à 0,22 % (fig.23).

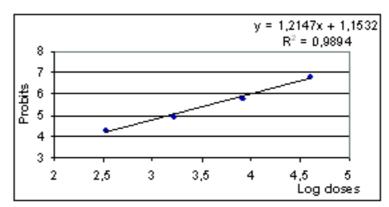


Figure n° 23 : DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle du Laurier

#### I-3-2-3 - La Menthe

Tableau n°9 : Efficacité de l'huile essentielle de la Menthe sur les œufs de T. cinnabarinus.

Doses (%)	Log (Dose x	Mortalité moy	∕e⁄ane	%	Probits
	100)		Mortalité observ	<b>é</b> ledortalité corrigé	е
$D_1 = 0,125$	2,52	12, 3□1,02	24,6	17,1	4,05
$D_2 = 0.25$	3,21	22,1 🗆 3,81	44,2	38,7	4,17
$D_3 = 0.5$	3,91	32,7□3,40	65,4	62,0	5,31
$D_4 = 1$	4,605	43,6□2,47	87,2	85,9	6,07
D <sub>0</sub> =Témoin		4,5□1,47	9		

Le test d'efficacité de l'huile essentielle de la Menthe a dévoilé une toxicité de cette dernière sur les œufs de T. cinnabarinus à la plus forte dose provoquant 85,9% de mortalité, la  $D_362\%$ , alors que la  $D_2$  et la  $D_1$  ont provoqué que 38,7 et 17,1% respectivement.

La droite de régression a permis le calcul de la  $DL_{50}$  qui est égale à 0,38 %, donc comprise entre la  $D_2$  et la  $D_3$  (fig.24).

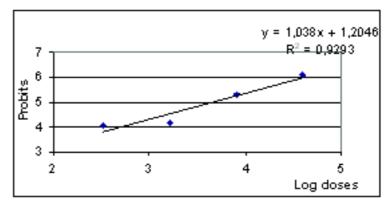


Figure n°24 : DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle de la Menthe.

## I-3-2-4 Le Thym

Tableau n°10 : Efficacité de l'huile essentielle du Thym sur les œufs de T. cinnabarinus

Doses (%)	Log (Dose x	M	% M	% M	P robits
	100)	ortalité moye	r <b>ortealité</b> observé	<b>cortalité</b> corrigée	
$D_1 = 0,125$	2,52	25,7□2,30	51,4	46,6	4,91
$D_2 = 0.25$	3,21	32,2 2,91	64,4	60,88	5,27
$D_3 = 0.5$	3,91	41,7□1,83	83,4	81,76	5,9
$D_4 = 1$	4,605	49,3□0,66	98,6	98,46	7,16
D <sub>0</sub> =Témoin		4,5□1,47	9		

Le Thym quand à lui, s'est montré toxique pour les œufs de T. cinnabarinus dés l'application de la D1( 46,6% de mortalités), la D<sub>2</sub> a provoqué 60,88% de mortalité, les D<sub>3</sub> et D<sub>4</sub> ont causé 81,76 et 98,46% de mortalité respectivement.

La DL<sub>50</sub> calculée est estimée à 0,16% et est comprise entre la D<sub>1</sub> et la D<sub>2</sub> (fig. 25).

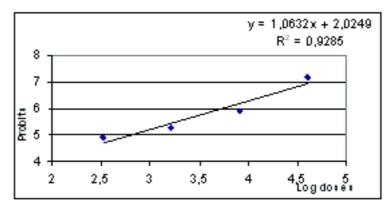


Figure n° 25 : DL<sub>50</sub> de l'huile essentielle du Thym.

## I-3-3-efficacité par inhalation des huiles essentielles sur *T. cinnabarinus*.

#### I-3-3-1 - le Romarin

	Г										
				Dose	d'utilisat	tion (µL/CN	VI3)				
	00,00	0,01	4	0,02	2	0,05		0,11		0	,22
Temps	% M.O.	M.M	%M.C.	M.M.	%M.C.	M.M.	. %M.C.		%M.C.	M.M.	%M.C.
15'	0,00	0,3±0,30	1,00	2,2±0,87	7,33	9,7±0,83	32,33	30	100,00	30	100,00
30'	0,00	2,3±0,51	7,67	8±0,82	26,67	16,1±0,94	53,67				
45'	0,00	3,6±0,73	12,00	15,7±0,83	52,33	27,5±0,79	91,67				
60'	0,00	4,1±0,85	13,67	21±0,65	70,00	30	100,00				
75'	0,00	7,6±0,94	25,33	24,8±0,26	82,67						
90'	0,00	8±0,92	26,67	28,6±0,66	95,33						
105'	0,00	8,2±1,05	27,33	30	100,00						
120'	0,00	8,7±1,05	29,00								
24h	0,00	9±1,20	30,00								
48h	0,00	9,3±1,17	31,00								
72h	0,00	9,6±1,06	32,00								
96h	2,67	9,8±1,05	30,82								
192h	5,67	10,1±0,85	29,68								

**Tableau n°11 :** Efficacité par inhalation de l'huile essentielle du Romarin sur T. cinnabarinus

#### Où:

MO : Mortalité observée.MM : Mortalité moyenne.MC : Mortalité corrigée.

D'après les résultats indiqués dans le tableau 9 et représentés par la fig. 26, l'huile essentielle du Romarin est efficace sur T. cinnabarinus par inhalation. En effet, les deux plus fortes doses,  $D_4$  et  $D_5$ , ont eu un effet choc sur l'acarien provoquant 100% de mortalité après 15 minutes d'exposition au produit, les  $D_3$  et  $D_2$  ont causé 100% de mortalité mais à des temps différents : 60 minutes pour la  $D_3$  et 105 minutes pour la  $D_2$ .

Alors que la  $D_1$  n'a provoqué que 29% de mortalité au bout de 120 minutes, ce pourcentage n'a pas beaucoup évolué dans le temps, il n'est que de 29,68 % après 192 heures d'exposition de traitement (soit 8 jours).

La mortalité naturelle dans le témoin est très faible (2,67) au bout de 96 heures, elle l'est restée (5,67%) jusqu'à la fin de l'essai.

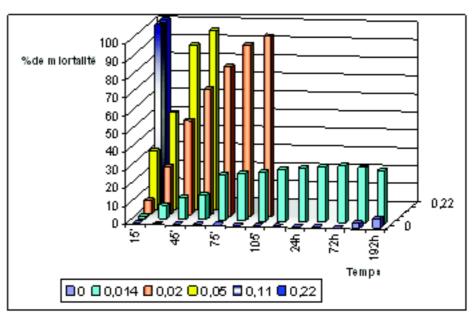


Figure n°26 : Efficacité par inhalation de l'huile essentielle du Romarin

I-3-3-2- le Thym

	Dose d'u	tilisation (µ	ıL/CM3	)							
Temps	0,00	0,014		0,02	0,02		0,05		0,11		
	% M.O.	M.M.	%M.C.	MM.	%M.C.	M.M.	%M.C.	M.M.	%M.C.	M.M.	%M.C.
15'	0,00	0,5±0,32	1,67	2,6±0,78	8,67	33,67	33,67	30	100,00	30	100,00
30'	0,00	2,4±0,52	8,00	8,6±0,66	28,67	55,00	55,00				
45'	0,00	3,9±0,54	13,00	15,9±0,74	53,00	93,67	93,67				
60'	0,00	4,2±0,76	14,00	21,5±0,67	71,67	100,00	100,00				
75'	0,00	7,8±0,91	26,00	25,2±0,39	84,00						
90'	0,00	8,2±1,04	27,33	29±0,65	96,67						
105'	0,00	8,2±1,04	27,33	30	100,00						
120'	0,00	8,9±1,14	29,67								
24h	0,00	9,2±1,36	30,67								
48h	0,00	9,4±1,24	31,33								
72h	0,00	9,6±1,05	32								
96h	2,67	10,1±1,28	31,85								
192h	5,67	10,4±1,10	30,74								

Tableau n°12 : Efficacité par inhalation de l'huile essentielle du Thym sur T. cinnabarinus

Les résultats obtenus montrent l'efficacité du Thym sur l'acarien T. cinnabarinus, les doses  $D_2 D_3 D_4$  et  $D_5$ ont provoqué 100% de mortalité après 105, 60 pour les 2 premières respectivement et 15 minutes pour les 2 plus fortes doses, témoignant ainsi de l'effet choc du produit. Tandis que la plus faible dose n'a causé qu'un taux de mortalité de 29,67 après 120 minutes d'exposition et 30,74 % après 192 heures d'exposition au film toxique de l'huile essentielle du thym (tableau 12 et fig. 27). La mortalité naturelle dans le témoin est faible, (2,67%) elle ne s'est produite qu'au bout de 96 heures.

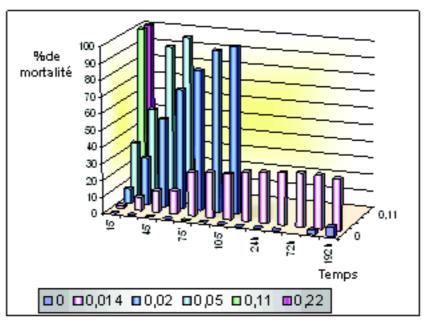


Figure n°27 : Efficacité par inhalation de l'huile essentielle du Thym

#### I-3-3-3- Le Laurier

				Do	se d'uti	ilisation (ı	ιL/CM3	<u> </u>			
Temps	0,00 0,014		0,02		0,05		0,1	1	0,3	22	
	% M.O.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.
15'	0,00	0	0,00	0	0,00	1,2±0,87	4,00	23,1±1,25	<i>7</i> 7,00	30	100,00
30'	0,00	0	0,00	0,9±0,46	3,00	12,9±0,74	43,00	30	100,00		
45'	0,00	0	0,00	1,5±0,33	5,00	15,5±1,18	51,67				
60'	0,00	1,9±0,55	6,33	1,6±0,32	5,33	21,6±1,69	72,00				
75'	0,00	1,9±0,55	6,33	1,7±0,42	5,67	30	100,00				
90'	0,00	1,9±0,55	6,33	2,5±0,44	8,33						
105'	0,00	2,1±0,46	7,00	2,6±0,43	8,67						
120'	0,00	2,1±0,46	7,00	2,8±0,39	9,33						
24h	0,00	2,1±0,46	7,00	5±0,42	16,67						
48h	0,00	2,2±0,49	7,33	6,7±0,77	22,33						
72h	0,00	2,2±0,49	7,33	9,9±0,61	33,00						
96h	2,67	2,2±0,49	4,79	10,4±0,43	32,87						
192h	5,67	2,2±0,49	1,76	12±0,51	36,39						

Tableau n°13 : efficacité par inhalation de l'huile essentielle du Laurier sur T. cinnabarinus

L'huile essentielle du Laurier est efficace par inhalation sur l'acarien au plus fortes doses :D $_3$  D $_4$  et D $_5$ engendrant 100 % de mortalité au temps 75, 30 et 15 minutes respectivement, alors que les deux plus faibles doses, sont à l'origine d'un taux de mortalité faible ; à la D $_1$ on enregistre 7 % de mortalité au bout de105 minutes ce chiffre n'a guerre augmenté jusqu'à la fin de l'essai. La D $_2$  a commencé à agir après 30 minutes avec un taux faible de mortalité ne dépassant pas 36,39% après 192 heures de traitement (tableau n° 14 et fig. 28).

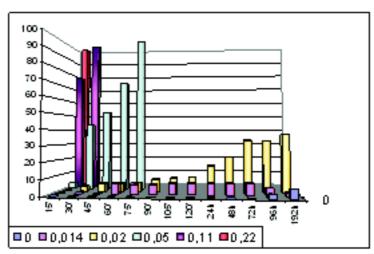


Figure n° 28 : Efficacité par inhalation de l'huile essentielle du Laurier

#### I-3-3-4 - La Menthe

	Dose d'utilisation ( μL/CM3)										
Temps	0,00 0,014		0,0	2	0,05		0,1	1	0,3	22	
	% M.O.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.
15'	0,00	0	0,00	0	0,00	1,2±0,87	4,00	21,2±0,70	70,67	30	100,00
30'	0,00	0	0,00	0,8±0,39	2,67	12,3±0,77	41,00	30	100,00		
45'	0,00	0	0,00	1,3±0,30	4,33	15,2±1,23	50,67				
60'	0,00	1,9±0,55	6,33	1,4±0,32	4,67	20,1±0,61	67,00				
75'	0,00	1,9±0,55	6,33	1,4±0,32	4,67	22,2±0,82	74,00				
90'	0,00	1,9±0,55	6,33	2,4±0,43	8,00	30	100,00				
105'	0,00	1,9±0,55	6,33	2,4±0,43	8,00						
120'	0,00	1,9±0,55	6,33	2,4±0,43	8,00						
24h	0,00	1,9±0,55	6,33	4,9±6,5	16,33						
48h	0,00	1,9±0,55	6,33	6,5±0,60	21,67						
72h	0,00	1,9±0,55	6,33	9,6±0,52	32,00						
96h	2,67	1,9±0,55	3,76	9,8±0,57	30,82						
192h	5,67	1,9±0,55	0,70	11,3±0,72	33,92						

**Tableau n°14 :** Efficacité par inhalation de l'huile essentielle de la Menthe sur T. cinnabarinus.

Les résultats indiqués dans le tableau n° 14 ont montré que l'huile essentielle de la Menthe a agit sur T. cinnabarinus par inhalation après 15 minutes de traitement à la plus forte dose provoquant 100% de mortalité, le même taux a été évalué à la quatrième et troisième doses après 30 et 90 minutes respectivement. La première et la deuxièmes dose ont provoqué un taux de mortalité très faible : 0,70 et 33,92 % après 192 heures de traitement respectivement.

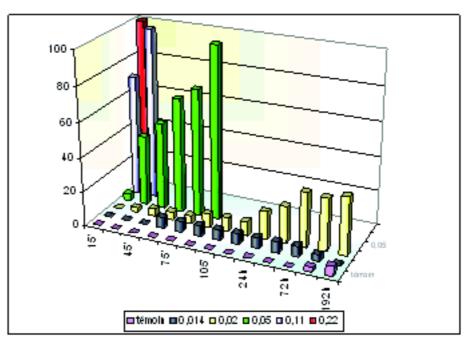


Figure n° 29 : Efficacité par inhalation de l'huile essentielle de la Menthe

#### I-3- 4 - Efficacité par contact des huiles essentielles sur *T. cinnabarinus*.

	Doses d'utilisation (μL/CM2)										
	0,00	0,0	0,013		0,019		0,039		78	0,157	
	% M.O.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.	%M.O.	%M.C.
Menthe	9,0	1±0,42	1,1	1,7±0,42	8,8	4,9±0,90	38,0	9,7±0,30	97,0	10	100,0
Laurier	9,0	1,2±0,49	3,3	2,1±0,55	13,2	5,3±0,66	48,4	9,8±0,26	97,8	10	100,0
Romarin	9,0	1,8±0,70	9,9	2,4±0,43	16,5	6±0,65	56,0	9,5±0,44	94,5	10	100,0
Thym	9,0	2,3±1,05	15,4	3±0,77	23,1	6,3±0,83	95,3	9,9±0,20	98,9	10	100,0

Tableau n°15 : Efficacité par contact des l'huiles essentielles sur T. cinnabarinus

D'après les résultats et après huit jours d'exposition au traitement, les quatre huiles se sont montrées très toxiques pour *T. cinnabarinus* par contact à la cinquième dose où la mortalité est de 100%.

A la quatrième dose, les mortalités sont importantes pour les quatre huiles : la Menthe (97%) le Laurier (97,8%), le Romarin (94,5%) et le Thym (98,9 %) .

Pour la deuxième dose, les mortalités sont pour la Menthe, le Laurier, le Romarin et le Thym respectivement : 8,8 ; 13,2 ; 16,5 ; et 23,1 % alors que pour la première dose, ce taux ne dépassait pas le 1,1 % pour la Menthe, 3,3% pour le Laurier, 9,9% pour le Romarin et 15,4% pour le Thym.

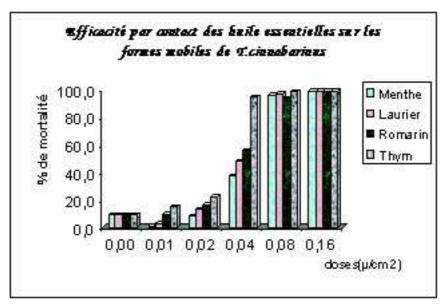


Figure n° 30 : Efficacité par contact des quatre huiles essentielles

#### I-3-5- Test de rémanence

Pour évaluer la durée d'action de chacune des huiles testées et vue leur insuffisance, nous avons opté pour l'application de la dose 0,125 % sur les formes mobiles de *T.cinnabarinus* jugée moyenne du fait qu'elle ait provoqué 50% de mortalité après 24 heures ou 192 heures

Les résultats	obtenus sont	mentionnés	dans le	tableau n°	17	et la figure 31

	Romarin		Thym		Menthe		Laurier		Témoin
H.E. temps	мм	% M.C	мм	% M.C	мм	% M.C	мм	% M.C	% Mortalité naturelle
24	23,5±2,30	78,2	24±1,98	79,9	21,1±1,79	70,1	21±1,62	69,8	0,7
48	6,8±1,26	22,7	4±0,65	13,3	3,1±0,99	10,3	3±0,71	10	0,0
72	0,9±0,68	3	2,1±0,61	7	0	0,0	0	0	0,0
96	0	0	0	0	0	0,0	0	0	0,0
192	0	0	0	0	0		0		1,7

Tableau n°16 : Rémanence des huiles essentielles.

Ce tableau montre que, malgré l'introduction échelonnée des acariens les 4 huiles essentielles n'agissent presque plus dés 72 heures. En effet nous remarquons que pour les quatre huiles, les mortalités enregistrées après 24 heures sont élevées, nous en avions noté 78,2% pour le romarin, 79,9% pour le Thym, 70,1% pour la Menthe et enfin, 69,8% pour le Laurier. Les létalités régressent nettement après 48 heures (tableau ci-dessus) et s'annulent après 96 heures pour le Romarin et le Thym, et après 72 heures dans le cas de la Menthe et du Laurier.

Ainsi nous pouvons dire qu'à la dose choisie ( équivalente à la D<sub>1</sub> de nos essais), la durée d'action des huiles essentielles étudiées est courte et ne dépasse pas quatre jour pour le Romarin et le Thym, et trois jours pour la Menthe et le Laurier.

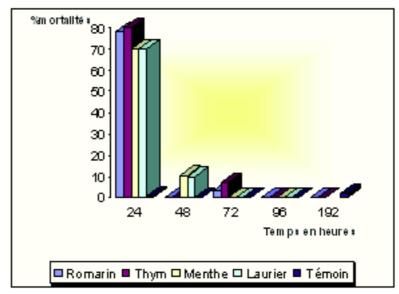


Figure n° 31 : Rémanence des huiles essentielles

#### Conclusion

Les tests biologiques ont montré que les huiles essentielles testées ont un excellent effet sur les formes mobiles et les œufs du ravageur *Tetranychus cinnabarinus* :

Les formes mobiles sont extrêmement sensibles aux quatre huiles, à la plus forte dose, les mortalités corrigées enregistrées sont de 100%.

Alors que dans le cas des oeufs, le thym est plus efficace en provoquant 98,48% de mortalités corrigées à la plus forte dose suivi du romarin (96,92%), du laurier (96,70%) et enfin de la menthe (85,9%).

Les quatre huiles essentielles sont foudroyantes sur les formes mobiles du déprédateur aussi bien par inhalation que par contact, en effet, à la cinquième dose, 100% de mortalités étaient provoquées par le composé volatile des huiles essentielles après 15 minutes pour le thym et le romarin, et 30 minutes pour le laurier et la menthe.

Au contact des produits, les mortalités sont évaluées à 100% à la plus forte dose, à la quatrième concentration, les létalités ont dépassé 90%.

L'étude de la durée d'action des quatre huiles essentielles a révélé leur faible persistance, selon les résultats, le thym et le romarin agissent pendant quatre jours alors que la menthe et le laurier, ils ne persistent que trois jours à la dose testée.

La comparaison des DL $_{50}$  ainsi que les pentes des droites de régression des différentes huiles essentielles mais également , l'analyse statistique réalisée confirment que sur les deux stades, le thym et le romarin agissent efficacement et rapidement , ce qui leur confère la première position dans le classement.

## **I-4- DISCUSSION**

#### I-4-1-Efficacité globale

Les essais réalisés ont montré que les quatre huiles essentielles ont eu un effet acaricide sur les formes mobiles et sur les œufs de *T.cinnabarinus*. Leur toxicité foudroyante est relative à leur mode d'action, elles agissent par inhalation et/ou par contact, et ce, malgré leur courte rémanence. En effet, d'après les résultats obtenus, il ressort que :

- Sur les formes mobiles: Les quatre huiles ont provoqué 100% de mortalité à la plus forte dose, toutefois, se basant sur les résultats de la deuxième et la troisième dose qui permettent de différencier entre ces huiles, on constate que: l'huile essentielle du Thym est plus efficace avec un taux de mortalité de 68,65% à la D<sub>2</sub> et 99,60% à la D<sub>3</sub>, suivi par le Romarin avec 86,76% et 99,43%, le Laurier avec 51,19% et 92,86% et enfin la Menthe avec 52,38% et 84,13%, au même ordre des doses.
- Sur les œufs : le thym est plus efficace sur les œufs provoquant 98,48% à la plus forte dose, suivi par le Romarin à 96,92%, le Laurier avec 96,70% et enfin la Menthe avec 85,9%.

La représentation de ces résultats dans un diagramme de dispersion a permis de tracer des droites de régression dont les pentes, représentant les variations des mortalités (variables expliquées) en fonction des doses (variables explicatives), sont positives (tableau n°17).

L'on constate que pour tous les produits testés, la relation entre les mortalités pour les deux stades de *T. cinnabarinus* et les doses utilisées est proportionnelle.

Tableau n°17 : pentes des droites de régression des différentes huiles Essentielles

Leshuilesessentielles	Thym	Romarin	Laurier	Menthe
Formes mobiles	1,21	1,27	1,35	1,26
Oeufs	1,06	0,97	1,21	1,03

Si on se réfère aux  $DL_{50}$  calculées à partir des équations des différentes droites de régression établies, les 4 huiles essentielles se sont montrées plus toxiques sur les formes mobiles que sur les œufs. (tableau n°18), les produits se classent comme suit :

- Sur les formes mobiles : Le Thym est en première position suivi par le Romarin, La Menthe et en fin du Laurier.
- Sur les œufs : Le Thym et le Romarin sont classés en premier, suivis par Laurier et la Menthe.

Tableau n° 18 : DL<sub>50</sub> des différentes huiles essentielles (en %)

Les huiles essentielles	Thym	Romarin	Laurier	Menthe
Formes mobiles	0,050	0,12	0,16	0,15
Oeufs	0,16	0,16	0,22	0,38

#### Analyse de la variance

L'analyse de la variance est fondée sur deux facteurs (produits et stades) et une variable (la mortalité).

Facteur 1 : produits

Produit 1 : Thym
Produit 2 : Romarin
Produit 3 : Laurier
Produit 4 : Menthe

Stade 1 : formes mobiles
Stades 2 : oeufs

L'analyse de la variance confirme nos résultats, en effet, il s'agit de l'efficacité des huiles essentielles des quatre plantes étudiées sur *T. cinnabarinus* qui est significative étant donnée la probabilité nulle des F de Fisher-Snedecor des deux facteurs : Produits-stades, et de leur interaction (tableau n° 19).

Selon le test de Newman et Keuls (Tableau 20), les quatre huiles ont agit différemment sur *T. cinnabarinus*. Le Thym en premier suivi du romarin étaient classés dans le premier groupe (A) puisque leur moyennes se rapprochent l'une de l'autre (31,69 pour le thym et 30,88 pour le romarin). Le Laurier et la Menthe occupent deux groupes différents (B et C respectivement).

Pour le facteur stade, il s'avère que l'action des huiles essentielles est beaucoup plus toxiques sur les formes mobiles que sur les oeufs, cela est reflété par les moyennes calculées qui sont 24,98 pour les formes mobiles et 20,15 pour les oeufs, ce qui classe ces deux stades en deux groupes différents : A et B.

L'interaction produit-stade, le thym et le romarin semblent avoir les mêmes résultats sur les deux stades ils sont d'ailleurs regroupés dans les mêmes groupes : A et C respectivement.

Les moyennes évaluées insèrent le Laurier et la Menthe dans deux groupes différents D et E pour les œufs. Dans le cas des formes mobiles, le groupe B est partagé par les deux produits (tableau n° 20) .

Tableau n°20 : Test de NEWMAN-KEULS à seuil=5%

	Libellés	Moyennes	Groupes homogènes	
Facteur 1 : produit	Thym	31,69 30,88 28,6	2A2A5,B7C	
	Romarin Laurier	wenthe		
Facteur 2 : stades	Formes	24,98 20,15	AB	
	mobiles oeufs			
Interaction F1*F2	Thym- FM Romarin- FM Laurier- FM Menthe- FM Thym- oeufs Romarin- oeufs Laurier- oeufs Menthe- oeufs	26,16 25,00 24,5	242 <b>4</b> , <b>2</b> 6822, <b>2</b> 3 <b>2</b> 2505	19,63 16,60

Phytophages ou ectoparasites, les acariens ont été la cible de plusieurs essais testant l'efficacité des huiles essentielles pour une éventuelle utilisation dans la lutte contre ces déprédateurs.

AMER et al., (2001) ont étudié l'effet répulsif et toxique de deux huiles essentielles, Majorana hortensis Moench et Rosmarinus officinalis L. sur deux acariens Tetranychidae Tetranychus urticae Koch et Eutetranychus orientalis (Klein) dans des conditions de laboratoire. Les deux huiles se sont montrées plus toxiques pour E. orientalis que pour T. urticae avec une augmentation significative de leur efficacité avec l'élévation des doses. Ils expliquent cette toxicité par la prédominance des composés oxygénés.

Sur les formes mobiles et les œufs de *T. cinnabarinus*, CHOUAT en 2004 avait réalisé des tests d'efficacité des huiles essentielles de l'armoise (*Artemisia alba*) et de l'origan (*Origanum glandulosum*), elle s'étaient montrées très toxiques sur les deux stades provoquant des mortalités excédant 50% dés la plus faible dose (0,25%) (61,11% sur F.M et 77,27% sur œufs pour l'armoise, 73,62% sur F.M et 69,54% sur œufs pour l'origan) pour atteindre 100% à la plus forte dose (4%).

D'autre part, dans la lutte contre *Varroa jacobsoni*, l'acarien redoutable des ruches d'abeilles, les huiles essentielles ont été testées et se sont montrées prometteuses. Des traitements par l'introduction dans les ruches, de bandes imprégnées de thymol, menthol eucalyptol et camphore, avaient donné des mortalités allant de 96,4 à 99% (RICKLI *et al.*, 1991 cité par BOGDANOV et IMDORF, 1999).

## I-4-2- Mode d'action et Rémanence

#### Effet par inhalation:

Les tests ont mis en évidence l'effet par inhalation des huiles essentielles utilisées sur les formes mobiles de T. cinnabarinus, aux plus fortes doses (0,11 et 0,22  $\mu$ l/cm $^3$ ), toutes les huiles ont provoqué 100% de mortalité après 15 minutes pour le Romarin et le Thym, et 60 minutes pour le Laurier et la Menthe. A la troisième dose (soit 0,05  $\mu$ l/cm $^3$ ) le taux de mortalité du Romarin et du Thym dépassa les 50% après 30 minutes pour atteindre respectivement : 53,67 et 55,67% alors que pour le laurier et la menthe, 72% et 67% sont les taux relevés après 60 minutes. Cette dose provoqua 100% de mortalité après 60 minutes pour le Romarin et le Thym, 75 minutes pour le Laurier et 90 minutes pour la Menthe.

La deuxième dose (0,02µl/cm3) quant à elle, s'est montrée efficace pour le romarin et le thym après 60 minutes avec successivement 70 et 71,67%, 100% de mortalité était le pourcentage estimé après 105 minutes. Alors que pour le laurier et la menthe, ce dernier était inférieur à 50%, après 192 heures, le laurier avait engendré 36,3% de mortalité tandis que la menthe avait causé 33,92 %.

Il en ressort que les quatre huiles essentielles agissent sur T. cinnabarinus par inhalation, le romarin et le thym sont toxiques à partir 0,02  $\mu$ l/cm $^3$  ce qui les positionne en première place, tandis que l'efficacité du laurier et de la menthe n'apparaît qu'à partir de 0,05  $\mu$ l/cm $^3$ .

Il est connu que l'effet d'inhalation d'un produit agit sur le système respiratoire de la cible en provoquant l'asphyxie de cette dernière, alors que pour SANCHEZ-RAMOS et CASTANERA., (2000) qui ont étudié l'effet acaricide des vapeurs de sept mono terpènes

(Pulegone, Eucalyptol, Linalol, Fenchone, Menthone, α-Terpinène et y-Terpinène) contre

l'acarien des denrées stockées *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), cette efficacité pourrait être due à une dessiccation puisque les individus morts présentaient des symptômes liés à ce phénomène, quoique l'interférence avec les processus respiratoires ne puisse pas être écartée.

Dans un autre travail sur *Sitophilus orizae* et *Callosobuchus chinensis*, le menthol extrait de 30 espèces végétales engendrait 90% à 100% de mortalité après un temps d'exposition au traitement allant de deux à quatre jours selon l'espèce végétale (SOON-II *et al.*, 2003).

Sur *T. cinnabarinus*, les huiles essentielles du cumin *(cuminum cyminum)*, anis *(pimpiinella ansium)*, origan *(Origanum syriacum)* et eucalyptus *(eucalyptus camaldulensis)* sont toxiques par fumigation (TUNI et SAHINKAYA, 1998 cité par ISMAN et MURRAY, 2000).

WON-IL CHO *et al.*, (2003), ont évalué cinquante-trois huiles essentielles de plantes pour leur toxicité contre des oeufs et les adultes de *Tetranychus urticae* aussi bien que sur les adultes de *Phytoseiulus persimilis*, en utilisant la diffusion des vapeurs des H.E en imprégnant du papier filtre sans permettre le contact direct avec les acariens. Les résultats ont montré une action très importante par inhalation des différentes huiles mais plus particulièrement celle de la menthe poivrée et de la menthe verte.

Dans ce travail et selon les résultats, l'action des huiles essentielles survient à des temps différents qui diminuent avec l'augmentation des doses, marquant l'effet choc du film toxique des huiles essentielles.

#### Effet par contact:

Les quatre huiles essentielles testées sont efficaces contre *T.cinnabarinus* à partir de la quatrième et cinquième dose, à 0,078 µl/cm<sup>2</sup> Les mortalités enregistrées étaient supérieures à 90% pour tous les produits, à 0,157µl/cm<sup>2</sup> les huiles provoquèrent 100% de mortalité.

A la troisième dose  $(0,039 \, \mu l/ \, cm^2)$ , seul le thym a donné un résultats significatif avec 95,3 % de mortalité, le romarin n'en a causé que 56%, alors que la menthe et le laurier ont provoqué des mortalités inférieures à 50 %.

A la deuxième et la plus faible dose (0,019 et 0,013µl/cm<sup>2</sup>), le taux de mortalité était très faible allant de 1,1 à 23,1% pour les quatre huiles.

Se basant sur ces résultats nous pouvons classer les produits comme suit : Thym; Romarin; Laurier; Menthe. Le même classement a été obtenu lors des tests d'efficacité globale.

Plusieurs travaux ont montrés l'efficacité par contact des huiles essentielles. En effet les huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et *d'Eucalyptus saliga* avaient l'objet d'un test d'efficacité par contact sur les tiques de la chèvre naine et a été relevé qu une dose de 0,629 µl/ cm<sup>2</sup>, les mortalités étaient 52% et 62,5% respectivement pour *Eucalyptus saliga* et *Chromolaena odorata* (TEDONKENG et al., 2004).

#### Test de rémanence :

Les résultats obtenus ont montré que les huiles essentielles sont peu rémanentes, le Romarin et le Thym agissent pendant quatre jours alors que la durée d'action de la Menthe et le Laurier n'est que de trois jours. Ces résultats sont reflétés par l'annulation des mortalités interprétant l'arrêt de l'action des huiles et ce pour la dose utilisée qui correspond à la plus faible dose.

Il serait intéressant de quantifier cette rémanence avec des doses plus élevée.

Cette courte durée d'action des huiles essentielles émane de leur composition chimique regroupant des molécules volatiles notamment les monoterpènes et plus précisément les molécules au groupement –OH

Actuellement, la recherche d'une alternative aux pesticides organiques peu persistants dans le traitement des denrées stockées a ouvert une piste prometteuse : celle d'utiliser des formulations d'huile essentielles efficaces, biodégradables, et peu rémanentes qui respecte la santé humaine et l'environnement (NGAMO, 2004).

Analyse de la variance

Pour la réalisation de l'analyse statistique, deux facteurs et une variable ont été utilisés : Facteur 1 : produits ; Facteur 2 : modes d'action. La variable est la mortalité.

En ce qui concerne le mode d'action, les huiles essentielles ont un effet différent et significatif sur *Tetranychus cinnabarinus*, ce qui a été démontré par l'analyse de la variance où la probabilité de F de Fisher-Snederor des facteurs (produits-mode d'action) ainsi que leur interaction est nulle (tableau n°22 ci-dessus).

D'après le test de Newman et Keuls, le thym et le romarin sont les plus efficaces rassemblés en un seul groupe A, le laurier et la menthe sont dans un autre groupe B.

Tableau n°22: Test de NEWMAN-KEULS à seuil=5%

	Libellés	Moyennes	Groupes homogènes	
Facteur1 : produit	Thym	16.17 15.98 13.2	2641A3.B5B	
	Romarin Laurier Mer	nthe		
Facteur2 : Mode d'action	Inhalation contact	23.38 5.84	АВ	
Interaction F1*F2	Thym- inhalation Romarin- inhalation Laurier- ihalation Menthe- inhalation Thym- contact. Romarin- contact. Laurier- contact Menthe- contact	26.04 26.02 20.8	3442. <b>9.</b> 18486C3 (D 5D9) <b>4</b> 5.	68 5.46

# II- Chapitre II : Analyses des huiles essentielles étudiées par GC/MS

#### II-1- INTRODUCTION

Nous avons utilisé la Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse pour analyser les huiles essentielles utilisées pour les essais biologiques.

Le GCMS représente le couplage le plus utilisé pendant ces dernières années, grâce à sa capacité d'identifier un nombre très important de composés présents dans les mélanges à analyser. TRANCHANT (1982) et LON GEVIALLE (1981), déclarent que cette technique joue le double rôle de réacteur (ionisation des molécules, fragmentation, ...etc.) et d'analyseur des produits de la réaction.

L'interface la plus simple pour la technique couplée GC-MS, consiste à réunir la colonne du chromatographe et le spectromètre de masse ; soit en introduisant directement l'extrémité de la colonne dans la chambre d'ionisation, soit par le relais d'un capillaire de transfert chauffé placé entre le chromatographe et le spectromètre de masse (ROUESSAC et ROUESSAC, 1992).

Le principe de la spectrométrie de masse :

Selon ROUESSAC et ROUESSAC (1992) et PRADEAU et COHEN (1992), lorsqu'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on initie un processus à plusieurs étapes :

Ionisation :

Les molécules présentes dans l'échantillon passent à l'état gazeux par effet du vide et sont ionisées par un des procédés existants. Il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation des molécules de départ ;

Accélération

Sitôt formés, les ions sont dirigés vers le dispositif de séparation par l'effet d'un champ électrique qui accroît leur énergie cinétique ;

Séparation

Les ions sont alors triés suivant leur rapport Masse /Charge;

Détection

Après leur séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées ;

Traitement du signal

Le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport Masse /Charge.

Pour identifier un composé moléculaire par spectrométrie de masse, on dispose de deux approches :

- Soit en faisant appel à une spectrothèque où est répertorié un grand nombre de spectres, parmi lesquelles on retrouvera celui du composé étudié s'il existe dans la collection;
- Soit en essayant de reconstituer la structure du composé de départ. Cette seconde possibilité est un exercice d'une grande complexité, les fragmentations étant assez souvent difficilement prévisibles. Il faut alors disposer de plusieurs spectres enregistrés dans des conditions différentes.

# II-2-ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES HUILES ESSENTIELLES

#### II-2-1- Mode opératoire

L'analyse des huiles essentielles étudiées a été réalisée au laboratoire du centre de développement et de recherche de Moubydal (Alger).

L'appareil est de marque Agilent technologies 5973 Network, le GC possède un injecteur es split splitless, le spectromètre de masse a une capacité allant jusqu'à 650 masse molaire et travail en mode impact électronique, le détecteur est de type MSD (Mass Selective Detctor).

# II-2-2- Conditions opératoires

Les conditions opératoires d'analyse par CG-MS sont les suivantes :

Colonne

Phase stationnaire: HP5.

Nature: 5 % phényle et 95% méthyle silicone (Légèrement polaire).

Longueur: 30 m.

Diamètre intérieur : 0.25 mm. Epaisseur du film : 0.25 μm.

**Température** 

Injecteur: 250 °C.

Quadripôle : 50°C

Colonne: 50 °C (T° initiale pendant 2 minutes) à 250 °C. (T° finale) à raison de 6 °C /min

Gaz vecteur: Hélium, débit 1,5 CC /min (débit constant).

Volume injecté: 0,2 µl en mode split.



Figure n°32 : appareillage de chromatographie en phase gazeuse /spectromètre de masse

Les huiles essentielles ont été injectées à leur état pur (sans extraction) dans le but d'identifier tous leur composants sans qu'il y ait de perte de molécules volatiles d'une part, et d'autre part, de permettre la détermination de leur temps de rétention .

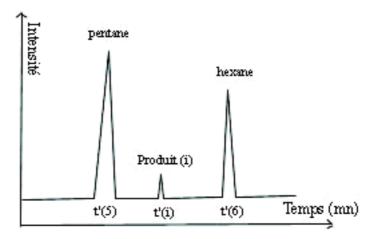
# II-2-3- Identification des pics

L'identification des différents composés des huiles essentielles injectées se base sur la comparaison de leurs pics à ceux de la banque des données du logiciel du GCMS (NIST98), l'indice de qualité détermine la fiabilité de l'identification, celui - ci est considéré comme étant correcte s'il est supérieur à 90%, s'il est compris entre 90% et 70%, les résultats devront être discutés et les pics obtenus seront dés lors comparés à ceux de la bibliographie faisant appel à la méthode de l'indexation. Les pics ayant un indice de qualité inférieur à 70% ne sont pas tenus en compte.

## II-2-4- Analyse qualitative :

#### Méthode de l'indice de rétention :

Les indices de rétention ont été définis par Kowats en 1958. A chaque produit (i) est associé un indice de rétention I(i), cet indice est basé sur un système d'étalonnage par des hydrocarbures linéaires.



$$I_i = 100 \cdot \left( \frac{t_r(i) - t_r(n)}{t_r(n+1) - t_r(n)} \right) + 100 \cdot n$$

Il en résulte que les alcanes linéaires ont des indices multiples de 100, I(pentane) = 500, I(hexane) = 600...

Ces indices de rétention se sont avérés remarquablement reproductibles pour une phase stationnaire donnée, quelque soit le % d'imprégnation pour les colonnes remplies ou l'épaisseur du film pour les colonnes capillaires, ils sont relativement indépendants de la température.

Cette bonne reproductibilité a été évaluée à + ou - 0,5%, ceci permet de comparer et d'utiliser des résultats venant de laboratoires différents. Ils existent donc des tables répertoriant les indices de rétention de nombreux produits chimiques. "La bonne pratique du laboratoire de chromatographie" dit que un produit inconnu peut être identifié si l'on obtient une bonne coïncidence pour deux phases stationnaires différentes entre les indices de rétention de la littérature et les indices expérimentaux du produit.

#### II-3- RESULTATS ET DISCUSSION

#### II-3-1-Le Laurier

L'analyse qualitative de l'huile essentielle du Laurier noble a permis l'obtention d'un chromatogramme correspondant à 54 pics (voir annexe) dénombrés dont 14 pics ont été identifiés par la bibliothèque du spectromètre de masse, 33 ont été indexés et 7 non identifiés

Il apparaît clairement que l'huile essentielle du laurier étudiée appartient au chémotype : laurier 1,8 cinéole (eucalyptol), puisque ce dernier est le composé majoritaire (17,42%), le linalool vient en deuxième position (11,82%) suivi de l'α-terpenyl acétate (10,53%), du Z-caryophyllène (9,80 %), de l'α-terpinéol (6,56%), du P-cymèn-8-ol (5,24%) et de l'α-terpinène 2,48 (tableau n°23).

TAJET en 2002 a étudié par GCMS la composition chimique de l'huile essentielle du laurier noble récolté de la forêt de Yakourane, le composé majoritaire est le 1,8 cinéole avec un taux de 35,82%, le linalool et l'α-terpènyl acétate sont classés respectivement en deuxième et troisième position avec des taux de 26,34% et 10,22%.

Pour BOUZOUITA et al. (2001), le composé majoritaire du laurier noble de Tunisie est le 1,8 cinéole (42,3%), suivi de l'α-terpenyl acétate et de l'eugénol avec 11,2%, le linalool n'a qu'un taux de 2,5%.

En 2000, SHATAR et ALTANTSETEG, analysèrent l'huile essentielle du laurier noble de Mongolie, cette huile contenait comme composé majoritaire le 1,8 cinéole avec un taux de 39,1% suivi de l'α-terpenyl acétate (18,2%) et le linalool (10%).

Tableau n°23 : Analyse qualitative et quantitative de l'H.E du Laurier par GCMS

IR.	Nom du composé	Teneur	IR.	Nom du composé	Teneur (%)
		(%)			
936	α-pinène	2,48	1356	Limonère aldehyde	10,53
951	Camphène	0,50	1322	o. Terpenyl acétate	0,74
979	β- Pinène	0,84	1364	Higénol	2,40
992	β- Myrcène	0,29	1396	β-elemène	0,24
1013	A-3-carène	0,19	1400	Methyle eugénol	0,59
1019	or-Terpène	0,40	1410	Z- caryophyllène	9,08
1027	limonène	1,16	1433	Caryophyllène	1,41
1036	Hicalyptol	17,42	1449	β-hammalène	0,34
1061	3-carène	0,85	1467	o-caryophyllène	0,38
1075	Cis-linalool oxyde	0,17	1472	o-terpenyl iso butyrate	0,60
1091	Nonanone	0,66	1475	y-manurolène	0,33
1103	Linalool	11,82	1494	σ-munolène	0,30
1150	Camphore	0,67	1498	И	0,28
1171	Bornéol	1,49	1500	Trans-β- guaiène	0,66
1183	Para-cymène-8-ol	5,24	1510	β-germacrène	0,78
1196	a-terpinéol	6,56	1516	β-sesquiphellandrène	0,60
1201	Exo-5-norbonene-2-	0,20	1534	Dihydroeugénol ac étate	0,80
	methanol acetate				
1206	Para cymène-9-ol	0,32	1561	Z-isoeugénol acétate	0,90
1216	Cis-sabinène hydrate acétate	0,3	1593	Spathulénol	1,30
1231	Z-ocimenone	1,64	1600	Caryophyllène oxyde	0,78
1235	Thymol	0,22	1609	И	0,35
1249	И	1,72	1620	И	0,25
1256	Linaloolacétate	1,95	1646	И	0,26
1291	Iso-3-thyjylacétate	0,40	1656	И	0,65
1295	Carvacrol	0,47	166	14-hydroxy-9-epi-e- caryophyllène	1,71
1305	Iso-3-thujylac etate	0,26	1825	NI	0,28
1310	Nonalole acétate	0,19	2176	NI	0,32
Total			1		95,75

**Tableau n°23 :** Analyse qualitative et quantitative de l'H.E du Laurier par GCMS

- Le classement des groupements chimiques selon leurs taux et dans un ordre décroissant, est représenté dans le tableau suivant :

Fonctions chimiques	Alcools	Hydrocæbures	Ethers	Esters	Phénols	Cétones	Aldéhydes	oxydes
Taux	25,73	20,83	17,4 2	16,3 6	3,68	2,97	0,74	0,95

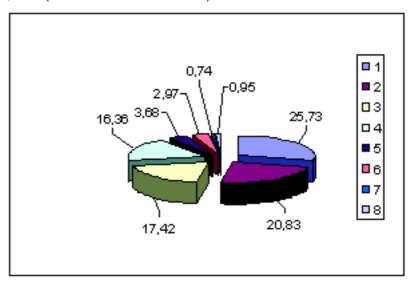
**Tableau n°24 :** classement des groupements chimiques de l'huile essentielle du laurier

D'après le tableau n° 24 et la figure 37, les fractions importantes sont les alcools avec 25,73% et les hydrocarbures avec un taux de 20,83%, les fractions des éthers, des

esters, des phénols et des cétones sont représentatives (17,42, 16,36, 3,68 et 2,97% respectivement) par rapport à celle des aldéhydes et des oxydes qui sont à l'état de trace.

TAJET, (2002) a trouvé que pour l'huile essentielle du laurier noble de la forêt de Yakourène, les éthers et les alcools étaient prépondérants avec 35,82 et 32,50% respectivement suivis des esters (11,64%), des hydrocarbures (10,45%), des phénols (4,44%), et des oxydes et acides (0,59 et 0,20%). Alors que dans l'huile essentielle du laurier noble d'Albanie, de France, d'Italie et d'Espagne, les hydrocarbures sont en première position suivi des alcools, des composés carboxyliques, des esters, oxydes, acides et phénols (PINO et BORGES,1999).

Le 1,8 cinéole est un composé qui a fait l'objet de plusieurs travaux ciblant son effet insecticide. Dans le traitement des insectes des denrées stockées, son efficacité ainsi que son mode d'action et sa répulsivité sur *Callosubruchus maculatus* (Coleoptera :Bruchidae) et *Rhyzoperta dominica* (Coleoptera, Bostrychida)et *Sitophilus orizae* (Coleoptera, Curculionidae)ont été testés, les résultats ont montré que ce composé avait un meilleur effet par inhalation en provoquant 93%, le teste de contact révéla que la toxicité par application locale était plus significative que celle évaluée par utilisation d'un papier filtre imprégné. La répulsivité quant à elle, était moyenne pour les trois espèces et est évaluée à 65,74% (AGGARWAL et al. 2002).



**Figure n°33 :** Distribution des différents groupements chimiques de l'huile essentielle du Laurier noble.1-alcools ; 2-hydrocarbures ; 3-éthers ; 4-esters ; 5-phénols ; 6-cétones ; 7-aldéhydes ; 8-oxydes

En 1999, LEE et *al.* ont réalisé des tests sur l'efficacité des mono terpènes par fumigation sur les insectes des denrées stockées les plus importants (*Sitophilus oryzae, Tribolium castaneum et Oryzaephilus surinamensis*), le 1,8 cinéole causa 100 % de mortalité.

Sur les acariens et plus précisément les tiques, trois huiles essentielles extraites de trois plantes appartenant au genre *Eucalyptus*, ont été testées sur *Boophilus mocroplus*. Ces huiles ont fait l'objet de préparation d'émulsion qui avait donné d'excellents résultats, parmi les huiles testées celle *d'Eucalyptus globulus* dont le composé majoritaire était le 1,8 cinéole. Cette dernière molécule a la formule empirique: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O, sa fonction Ether est probablement responsable de son effet insecticide

#### II-3-2- La Menthe

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de la menthe a laissé dégager 66 pics (voi annexe) dont 13 ont été identifiés par GCMS, 35 par indexation et 16 pics sont restés non identifiés.

Les résultats obtenus ainsi que leur classification par familles chimiques sont indiqués dans les Tableaux 25 et 26 suivants :

Les résultats ont démontré que le composé majoritaire est le carvone représenté par un taux de 24,28%, donc l'huile essentielle de la menthe étudiée est du chémotype : Menthe carvone. Elle est également constituée du 1,8 cinéole avec un pourcentage de 8,30%, du limonène (8,08%), nous remarquons la présence du caryophyllène (4,05%), trans-dihydrocarvone (3,61%), l'iso-menthol (3,38%), le bicyclogermacrène (2,42%), du carvenone (2,14%), le menthol (1,37%), le □-phellandrène (1,27%). Ces constituants sont accompagnés du para-cymène et caryophyllène oxyde qui ont la même teneur estimée à 1,24%, ainsi que le z-caryophyllène et le spathulénol (1,17%).

Dans d'autres travaux, AIT-OUAZOU en 2002 avait étudié la composition chimique de l'huile essentielle de la Menthe verte de Bougara par GCMS .L'analyse révéla la présence de 33 constituants où le carvone était le composé majoritaire avec un taux de 38%.

La richesse des huiles essentielles diffère selon l'origine géographique ou botanique de l'échantillon, à cet effet, les recherches sur la constitution chimique de l'huile essentielle de la menthe a montré une grande différence dans le nombre de constituants identifiés, en 1995, GHRIB in AIT-OUAZOU (2002), trouva 41 composés lors de l'étude de l'huile essentielle de la menthe de Hajout. Celle des USA comprenait 11 constituants (MASSADA, 1976).

La classification des composés selon leurs groupements chimiques permet le calcul des teneurs de chacun d'eux, le groupement dominant est celui des cétones avec un taux de 30,53% suivi es hydrocarbures dont la teneur est de 24,39%(Tableau 26 et Figure 38) donnent la classification des groupements chimiques selon l'ordre décroissant de leurs teneurs.

IR	Nom du composé	Tener	IR.	Nom du composé	Teneur
		(%)			(%)
935	σ-pinène	0,65	1406	Z-caryophyllène	1,17
975	sabinène	0,54	1400	Methyl eugénol	1,15
979	β-phellandrène	1,27	1433	Caryophyllène	4,05
991	β-myrcène	0,48	1441	β-Humulène	0,45
995	Meta -mertha-1(7),8-	0,68	1457	σ-Humulène	0,43
	diene				
1019	a-terpinène	0,16	1467	9-epi-E-caryophyllène	0,28
1027	P-cymène	1,24	1476	Epi-icyclosesquiterpène	0,50
1032	Limonène	8,08	1480	6-gemaciène	0,28
1035	1.8-cineol	8,30	1494	bicyclogermacrène	2,42
1038	Z-β-ocymène	0,24	1510	β-curcumène	0,36
1061	Z-β-3-carène	0,43	1535	Dihydroeugenol ac étate	0,52
1069	Terpinéol	0,30	1593	Spathulénol	1,17
1090	4-carène	0,17	1600	Caryophyllène oxyde	1,24
1100	Cisthujane	0,34	1626	2-(3-oxobutyI)-iso	0,19
				menthone	
1111	1,3 \$-para-	0,12	1630	δ-eudesmol	0,27
	menthatriène	'			'
1124	Endo-fen chol	0,23	1669	σ-cadinol	0.78
1171	Menthol	1,37	1701	Caryophyllene a cétate	0,22
1182	Iso-menthol	3,38	1722	NI	0,17
1195	Verb anol	0,54	1734	NI	0,03
1200	Trans dihydrocarvone	3,61	1832	NI	0,17
1227	Neo-iso dihydrocarvéol	0,52	1812	NI	0,31
1238	Pulegone	0,27	1943	NI	0,90
1242	Carvenone	2,14	1980	М	0,66
1245	Methylethylcarvacrol	0,24	1997	NI	0.78
1252	Carvone	24,28	2068	NI	1,59
1292	Trans verbenyl acétate	0,16	2088	NI	0,27
1296	Ethyl ether carvacrol	0,24	2051	М	1,08
1302	Iso-3-thujyl acétate	0,49	2122	М	3,23
1332	δ-elemène	0,39	2141	М	3,33
1367	Dihydroeugenol	0,21	2128	NI	271
1386	E-jasmone	0,15			
1396	ИІ	3,52			
Total					95,25

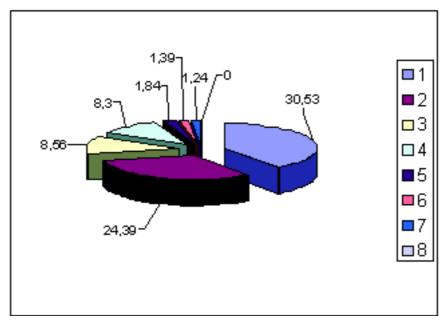
**Tableaux n°25 :** Analyse qualitative et quantitative de l'H.E de la Menthe verte par GCMS

Tableau n°26 : classement des groupements chimiques de l'huile essentielle de la menthe verte

Fonction	Cétones	Hydrocarb	uAttensools	Ethers	Phénols	Esters	Oxydes	Aldéhyde
chimique								
Taux	30,53	24,39	8,56	8,30	1,84	1,39	1,24	0

On constate que le groupe des aldéhydes est nul dans l'huile essentielle de la Menthe, les oxydes et les esters ont une faible teneur. Les éthers et les phénols présentent des taux non négligeables.

AIT OUAZZOU (2002), trouva des résultats semblables aux notres, c'est uniquement la teneur qui change : les cétones classées en première position avec 38,71% suivis des hydrocarbures (12,17%). la Menthe verte de Bougara ne contenait pas d'aldéhydes.



**Figure n°34 :** distribution des groupements chimiques de l'huile essentielle de la Menthe verte : 1-cétones ; 2-hydrocarbures ; 3-éthers ; 4-phénols ; 5-éthers ; 6-esters ; 7-oxydes ; 8-Aldéhydes

#### II-3-3-Le Romarin

L'étude qualitative de l'huile essentielle du romarin a donné 27 pics (voir annexe) parmi eux 3 seulement ont été identifiés par GCMS et 2 non identifiés, les 22 restants ont été identifiés par indexation. Les résultats correspondant sont indiqués dans le tableau 27 ci-dessous.

IR	Nom du composé	om du composé Teneur IR Nom du composé		Teneur	
		(%)			(%)
937	α-pinène	15,25	1168	3-thujanol	1,88
951	Camphène	3,52	1171	Bornéol	5,68
956	Verbenène	0,51	1174	Terpin-4-ol	0,58
80	β-pinène	0,60	1182	Para-cymène-8-01	2,71
992	β- myrcène	0,73	1190	α-terpinéol	0,62
1027	α-cymène	2,55	1196	Para-cymene-9-01	3,02
1031	1imonène	3,08	1203	И	0,51
1034	1.8-cinéol	0,26	1210	Verbenone	10,13
1061	y-terpinène	0,35	1218	camphore	14,15
1091	Trans linalool oxyde	0,76	1223	И	2,10
1101	Cis-thujone	7,02	1243	Carvone	1,41
1130	Iso-3-thujanol	2,15	1249	Isogeijerène	1,64
1146	Cis-β-terpinéol	0,34	1256	Linalool acétate	2,32
1151	Néo-3-thujanol	11,89			
Total					95,76

### Tableau n°27 : Analyse qualitative et quantitative de l'H.E du Romarin par GCMS

Le tableau n° 27 ci-dessus montre que 95,76% de la totalité de l'huile essentielle du romarin a été quantifiée où 15,25% représentent l'α-pinène d'où le chémotype : Romarin α-pinène et 14,15 % est la teneur du camphore, suivi dune o-3-thujanol (11,89%), verbenone (10,13%), cis-thujone (7,02%) et bornéol (5,68%). Ces composés sont les constituants majoritaires de cette huile vue leurs teneurs par rapport aux autres.

BOUTEKDJIRET et al. (1998), ont trouvé en travaillant sur le romarin d'Algérie (Monts des babors) 35 composés, mais dans ce cas, le composé majoritaire était l'Eucalyptol. Selon le même auteur, il pourrait exister deux principaux types d'huiles essentielles de romarin : l'un ayant des concentrations élevées en 1,8 cinéol et l'autre caractérisé par de faibles teneurs en ce même composé.

MAKHLOUF (2002), identifia 36 constituants représentant 90,6% de l'huile, parmi lesquels l'α-pinène était classé le premier avec un taux de 28,96%, le camphore en deuxième position (12,73%) suivi de verbenone (9,22%) et limonène (5,39%).

- La répartition des groupements chimiques de l'huile essentielle du romarin révéla la dominance des cétones avec une teneur de 32,71% accompagnées des alcools et des hydrocarbures avec des taux de 28,87 et 28,23 % respectivement.

On note également la faible teneur en éthers (0,26%), en esters (2,32%) et en oxydes (0,76%). Les aldéhydes et les phénols sont deux groupements totalement absents dans cette huile. Cela implique que de la totalité de l'huile essentielle du romarin, 93,15% a été identifiée (tableau n° 28 et figure 39).

Tableau n°28 : classement des groupements chimiques de l'huile essentielle du romarin

Fonctions	Cétones	Alcools	Hydrocarb	u <b>Ers</b> ters	oxydes	Ethers	Aldéhyde	e₿hénols
chimiques								
Taux	32,17	28,87	28,23	2,32	0,76	0,26	0	0

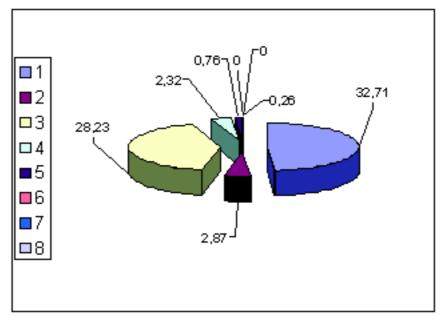


Figure n°35: répartition des groupements chimiques de l'huile essentielle Du romarin. :1-Cétones ; 2- Alcools ; 3- Hydrocarbures ; 4- Esters : 5- Oxydes :6- Ethers : 7- Aldéhydes :8- Phénols

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les composés monoterpéniques pour évaluer leur effet insecticide en particulier sur les ravageurs des denrées stockées. Le pouvoir létal de l'α-pinène sur Acanthoscelides obtectus était prouvé par fumigation, la molécule avait également un effet inhibiteur sur la reproduction ce qui affecte la fécondité, l'oviposition et le développement larvaire du coléoptère (REGNAULT et al, 1995).

L'huile essentielle du romarin avait fait l'objet de plusieurs études pour évaluer son effet insecticide ; les résultas obtenus témoignèrent de sa toxicité :

En 2002, PAPACHRISTOS et al, travaillèrent sur Acanthoscelides obtectus, ils avaient conclu que les vapeurs de l'huile essentielle du romarin étaient répulsives à cette bruche, elles engendraient la réduction de la fécondité et de l'éclosion des œufs, la mortalité des larves et influençait l'émergence des formes hivernantes.

EL GUEDOUI (2003), avait évalué la toxicité de l'huile essentielle du romarin sur *Rhyzopertha dominica*par inhalation et contact. Par inhalation et à la plus forte dose le pourcentage de mortalité est de 38,92% alors que par contact il était de 100%, elle possède également, un effet répulsif vis-à-vis de cet insecte.

L'effet bactéricide de l'huile essentielle du romarin a été mis en évidence. BOUSBIA, (2005) avait testé ses propriétés bactéricides sur les bactéries gram+ et gram – par les méthodes de diffusion par disque et par puit, son travail avait abouti au choix de la deuxième méthode qui avait donné de meilleurs résultats. En effet son action inhibitrice était significative sur *Staphylococus aureus* (41,83%), sur *Staphylococus epidermidis* (6,00%), *Enterococcus faecium* (6%), *Pseudomonas aeruginosa* (6%), *Escherichia coli* (20,33%), *Salmonella bruneii* (16,67%) et enfin *klebsiella pneumonia* (6%).

#### II-3-4-Le Thym

L'analyse chimique de l'huile essentielle du thym a fourni seulement 12 pics (voir annexe) dont 8 ont été identifiés et 4 indexés

Les résultats sont indiqués dans le tableau 29 ci-dessous :

Tableau n°29: analyse qualitative et quantitative de l'H.E du thym par GCMS

IR	Composés	teneur (%)
979	Sabinène	0,48
1033	Eucalyptol	0,73
1100	Carvone	8,35
1171	Bornéol	2,41
1181	Para –cymène-8-ol	1,61
1247	Thymoquinone	0,97
1295	Thymol	43,22
1301	Iso-3-thujyl acétate	0,53
1307	Carvacrol	34,49
1432	□-elemène	0,33
1592	spathulénol	1,13
1600	Caryophyllène oxyde	0,64
Total		86,54

Le chèmotype de l'huile essentielle de thym analysée est : thym thymol, nous avons identifié 86,54 % de sa totalité. De ce fait, le composé majoritaire est le thymol dont l teneur est 43,22%. D'autres constituants ont des concentrations significatives : le carvacrol (34,49%), le carvone (8,35%) et le bornéol (2,41%).

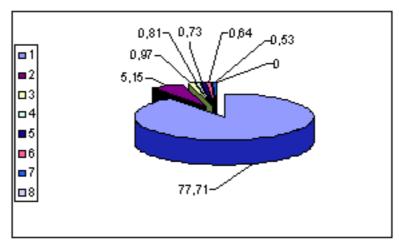
Nos résultats sont en accord avec ceux de HUDAIB et al., (2002) qui a étudié la composition chimique de *Thymus vulgaris* du jardin de Casola-Valsenio (Ravenna, Italie). par GCMS. Les résultats obtenus avaient dévoilé la prédominance des monoterpènes phénoliques à citer le thymol et le carvacrol.

EL-GUEDOUI (2003), réalisa l'analyse de l'huile essentielle de thym *Thymus fontanesii* par le même instrument, dans ce cas, c'est le carvacrol qui était dominant (44,1%), le thymol occupa la seconde place (26,4%). BOUSBIA (2005), qui analysa l'huile essentielle de thym par CPG trouva que le composé majoritaire était le thymol avec une teneur de 38,19% suivi du carvacrol (26,26%).

Les groupements phénoliques sont prépondérants dans l'huile essentielle du thym, en effet, ils représentent 77,71% de la totalité de l'huile. Les alcools viennent en deuxième position avec une teneur peu significative mais non négligeable dont le pourcentage est de 5,6%, les autres constituants ont des teneurs très faibles, on note également l'absence de groupement des aldéhydes (Tableau 30 et Figure 40).

Tableau n°30 : classement des groupements chimiques de l'huile essentielle du thym

Fonction	Phénols	Alcools	Cétones	Hydrocarl	o <b>Eites</b> rs	Oxydes	Esters	Aldéhyd	les
chimique									
Taux	77,71	5,6	0,97	0,89	0,73	0,64	0,53	0	



**Figure n°36 :** répartition des groupements chimiques de l'H.E. du thym.1. Phénols ; 2.Alcools ; 3. Cétones ; 4.Hydrocarbures ; 5.Ethers ; 60xydes ; 7.Esters ; 8.Aldéhydes

Dans la lutte contre les différents ravageurs et parasites, le thym a donné des résultats prometteurs. Le thymol est une molécule qui a fait l'objet de plusieurs essais biologiques vu ses propriétés bactéricides, fongicides, insecticides et acaricides.

Sur les insectes des denrées stockées, REGNAULT *et al*, en 1995 avaient testé le thymol et le carvacrol sur *Acanthoscelides obtectus*, ces deux composés phénoliques avaient exprimé une grande toxicité par inhalation provoquant l'inhibition du développement larvaire et la diminution de la fécondité et l'oviposition des femelles.

EL-GUEDOUI (2003), testa l'huile essentielle du *Thymus fontanesii* sur *Rhyzopertha dominica*, cette huile s'est avérée plus toxique par contact (100% de mortalité à 0,69 mg/cm<sup>2</sup>) que par inhalation (40,93% à 1,44 mg/cm<sup>3</sup>).

En Acarologie, IMDORF *et al.*, (1999), ont fait des études sur l'utilisation des huiles essentielles dans la lutte contre V*arroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles, ils conclurent que parmi tous les composés, le thymol a donné les meilleurs résultats qu'il soit pur ou en mélange. Selon leurs travaux, il est bien toléré par les abeilles et les résidus dans le miel sont très faibles, il lui a été attribué le statut GRAS par la FAO, ce qui veut dire : Reconnu sans danger allant jusqu'à 50mg/kg. On préconise pour une bonne efficacité une concentration minimale située entre 5 et 15 µg/ litre d'air/ruche.

En tant que bactéricide, le thym a fait preuve de son efficacité, en 2003, DE FEO et al., ont tester l'effet de l'huile essentielle de thymus spinulosus dont les composés majoritaires sont le thymol et le carvacrol sur huit espèces de bactéries gram+ et gram-, les résultats étaient hautement significatifs à une concentration de 10mg/ml Sur d'autres bactéries gram + et gram-. BOUSBIA en 2005 avait réalisé des essais d'efficacité par la méthode des puits, de l'huile essentielle de thymus pallescence, l'huile s'est révélée très efficace.

#### Conclusion

L'étude analytique des quatre huiles essentielles par GC/MS a permet d'énumérer leurs constituant d'une part, et de déterminer d'autre part leur chémotype.

L'huile essentielle du thym appartient au chémotype : Thym thymol où la teneur du thymol est de 43,22%, selon l'analyse, le groupement chimique dominant est celui des phénols représenté par un pourcentage de 77,71% suivi des alcools qui viennent en deuxième position avec une teneur de 5,6%.

Le chémotype du romarin est: Romarin α-pinène, ce dernier étant le constituant principal estimé à 15,25%. Cette huiles essentielles est riche en cétones puisque leur teneur est de 32,17%, en alcools (28,87%), et en hydrocarbures (28,23%).

L'huile essentielle du laurier appartient au chémotype 1,8 cinéole au taux de 17,42%. Elle contient 25,73% d'Alcools, 20,83 % d'Hydrocarbures, 17,42% d'Ether, 16,36% d'Esters, 3.68% de Phénols et 2,97 % de Cétones. Les Aldéhydes et les oxydes ont un très faible taux estimé à 0,74% et 0,95% respectivement.

L'analyse a révélé que l'huile essentielle de la menthe verte a le chémotype : menthe carvone puisque ce dernier a un taux de 24,28%. Les groupements chimiques dominants dans cette huile essentielle sont les Cétones et les Hydrocarbures (30.53% et 24,39% respectivement), viennent après les Alcools (8,56%), les Ethers (8,30%), les Phénols (1,84%), les Esters et les Oxydes aux taux de 1,24%.

# Conclusion générale

Le travail réalisé sur l'efficacité des huiles essentielles du thym, romarin, laurier et menthe sur T. cinnabarinus, a donné des résultats hautement significatifs.

Les tests biologiques sur les formes mobiles ont montré que les quatre huiles essentielles ont été foudroyantes à la D<sub>4</sub> et D<sub>5</sub> provoquant 100 % de mortalité.

Aux autre doses, le thym est classé en premier avec un taux de mortalité de 68,65% à la D<sub>2</sub> et 99,60% à la D<sub>3</sub> , suivi du romarin avec 86,76% et 99,43%, le laurier avec 51,19% et 92,86% et enfin la menthe avec 52,38% et 84,13% au même ordre des doses.

Sur les œufs, les huiles essentielles testées ont montré un bon effet ovicide engendrant des mortalités hautement supérieures à 50% à partir de la  $D_2$  pour le thym (60,88%) et le romarin (55,82), et  $D_3$  pour la menthe (62%) et le laurier (78,90%). A la plus forte dose  $D_4$ , les mortalités enregistrées étaient 98,46%, 85%, 96, 70% et 96,92% pour le thym, la menthe, le laurier et le romarin respectivement.

Le mode d'action des huiles essentielles a également fait l'objet de notre travail.

Par inhalation, les quatre huiles essentielles ont eu un effet de choc sur les formes mobiles de T. cinnabarinus , aux plus fortes doses  $D_4$ et  $D_5$  , le taux de mortalité a atteint les 100% après 15 minutes d'exposition à la vapeur toxique de l'huile essentielle du thym et du romarin , pour le laurier et la menthe , la  $D_5$  provoqua 100% de mortalités après 15 minutes alors que la  $D_4$ , après 30 minutes.

Par contact, les mortalités provoquées par toutes les huiles essentielles étaient à 100% à la plus forte concentration D<sub>5</sub>, à la D<sub>4</sub>, elles dépassaient nettement les 94%.

Pour la durée d'action, les résultats ont révélé que les huiles essentielles du romarin et thym avait une rémanence de 3 jours alors que celles de la menthe et laurier était de 2 jours à la dose utilisée (0,125%).

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons étudié la composition chimique des quatre huiles essentielles par GCMS, les résultats ont permis de déterminer les composés majoritaires de chacune d'elles et d'en déduire leur chémotype :

L'huile essentielle du thym est du chémotype : thym thymol avec un taux de thymol de 42,23%.

Celle du romarin est du chémotype romarin  $\alpha$ -pinène , ce dernier étant le composé majoritaire a un taux de 15,25%.

Le chémotype du laurier est : laurier 1,8 cinéol avec un taux de 17,42%, quant à la menthe , elle appartient au chémotype menthe carvone dont le taux est 24,28%.

A la lumière de tous les résultats obtenus, il en ressort que les huiles essentielles du thym, du romarin, du laurier noble et de la menthe ont des propriétés acaricides leur permettant de réduire les populations de Tetranychus cinnabarinus avec une action foudroyante en agissant par contact et/ou par inhalation.

Quant à leur rémanence, bien qu'elle soit courte, cela n'exclu pas l'idées que ces huiles pourront faire l'objet d'une formulation où les stabilisants et les conservateurs prolongeront leur activité et augmenteront leur rémanence pour atteindre des durées d'action plus ou moins longues.

L'étude de la composition chimique a mis en évidence les composés majoritaires qui, selon la bibliographie possèdent une activité insecticide, le 1,8 cinéol et le thymol sont les molécules cibles qui méritent d'être isolées et faire l'objet d'une formulation. A ces molécules on peut ajouter des adjuvants tels que les stabilisants pour les rendre plus stables et rémanentes.

## Références Bibliographiques

- ABBOTT W.S., 1925 A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal Ecological Entomology. n°18, pp. 265-267.
- ABED H., 1987- Inventaire des acariens des cultures maraîchères et biologie de *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari ; Tetranychidae) dans le littoral Algérois. Thèse Ingénieur d'Etat, Inst.Nat.Agr., El-Harrach, 53 p. .
- AFNOR, 2000 a Huiles essentielles, échantillonnage et méthode d'analyse. Ed. PARA Graphic, T.1, 471 p.
- AFNOR, 2000 b- Huiles essentielles, Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. PARA Graphic, T. 2, Vol. 1, 323 p.
- AFNOR, 2000 c Huiles essentielles, Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. PARA Graphic, T.2, Vol. 2, 663 p.
- AGGARWAL K.K , TRIPATHI A.K., PRAJAPATI V. and KUMAR S., 2003 Toxicity of 1, 8-Cineole towards species of stored product Coleopterans. Insect Sci.Applic., Vol.21, n° 2, pp. 155-160.
- AIT OUAZZOU A., 2002 Extraction et identification des huiles essentielles de *Mentha viridis* L. (Menthe verte). Thèse Ing., Sci.Nat.Agr., Inst.Nat.Agr., El-Harrach, 50p.
- AMER S.A.A., SABER S.A. and MOMEN F.M., 2001- A comparative study of the effect of somme minera land plant oil on the two spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae ). Acta phytopathologica et entomologica hungarica, Vol 36, part. ½, pp. 165-172.
- ATHIAS-HENRIOT C., 1959- Acarologie appliquée et agronomie Algérienne. I Remarques générales sur l'Acarologie économique. Il cas de l'agriculture algérienne. Acarologia, T.1, Fasc.2, pp.181-196.
- ATTIAH H. H. and BOUDREAUX H.B., 1964 Influence of DDT on egg laying in spider mites. J.Econ.Entomol. n°57, pp 50-53.
- AZAIZEH H., GALINA G., SAID O. And BARASH I., 2002- Biological control of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in cucumber using the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Phytoparasitica, n° 30, pp. 118-24.
- BAALIOUAMER A., 1987- Analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles de Citrus provenant de la station de Boufarik. Thèse doctorat d'Etat Esscien.. Phys., U.S.T.H.B., 143 p.
- BELGHAZI L., LAHLOU N., ISMAILI M.A, ABOUSSAOUIRA T., HABTI N., TANTAOUI IRAKI A., TALBI M., BLAGHEN M. and FELLAT-ZARROUK K., 2002- Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot test antifongique. Congrès de biochimie, Casablanca, pp. 38-40.
- BISWAS G. C., ISLAM W., HAQUE M.M., SAHA R.K., HOQUE K.M.F., ISLAM M.S. and HAQUE M.E., 2004 Some biological aspect of Carmine spider mite, *Tetranychus*

- *cinnabarinus* Boisduval (Acari: Tetranychidae) infesting egg-plant from Rajshahi. Journal of biological sciences, vol.4, n°5, pp. 588-591.
- BOELENS M. H., 1985 Then essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. Perf.flav, vol.5,n°10, pp. 21-37.
- BOUDJADA S., 1996 Faites connaissance avec le Romarin. La forêt algérienne, n°1, 37p. .
- BOUDREAUX H. B., 1956 Révision of two spotted spider mite *Tetranychus telarius* (Linnaeus). Ann.ent.soc.am., vol.49, pp. 43-48.
- BOULFEKHAR H., 1985 Inventaire des acariens des citrus au Mitidja et étude bio écologie de *Tetranychus turkestani* U.N. (Acari :Tetranychidea) dans un verger d'orangers « valencia late » à Rouïba. Thèse magistère, sci.nat.agr., Inst.Nat.Agr., El-Harrach, 113 p. .
- BOULFEKHAR H., 1998- Inventaire des acariens des citrus en Mitidja. Inst.Nat.Agr., El-Harrach, vol. 19, n° 1 et 2, pp. 30-39.
- BOUNFOUR M., 1990 Initiation à l'Acarologie. Polyc. Protection des végétaux, Maroc, 15p. .
- BOUSBIA N., 2005 Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leurs activités antimicrobiennes. ThèseMagistère,Sci.Alim.,Dept.Tech.Alim.Nut.Hum.,Inst.Nat.Agr.,El-Harrach,150 p.
- BOUTEKDJIRET C. and al, 1998 The essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.'Algeria. Journal essential oil research, .n°10, pp. 680-682.
- BOUZOUITA N., NAFTI A., CHAABOUNI M.M., LOGNAY G.C., MARLIER M., ZGHOULLI S. and THONART PH., 2001 Chemical composition of *Laurus nobilis* oil from Tunisia. J. Essent. oil Res., n°13, pp. 116-117.
- BRUINS A.P., 1979 Negative ion chemical ionisation mass spectrometry, in the determination of components in essential oils. Ann. chem., Vol.51, pp. 967-972.
- BRUN P., 1972 Situation phytosanitaire (entomologie) des vergers d'agrumes en Algérie. Compte rendu de mission en Algérie. INRA., IFAC San GUILIANO (corse), pp. 9-10.
- BRUNETON J., 1997 Eléments de Phytochimie et de Pharmacologie. Ed. Lavoisier, Technique et Documentation, Paris, pp. 405-426.
- CALDERONE N.W., TWILSON W. and SPIVAK M., 1997 Plant extracts used for control of the parasitic mites *Varroae jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). J. Econ. Entomol., n°90, pp.1080-1086.
- CAPO M., COURILLEAU V. et VALETTE C., 1990 Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques, 204 p.
- CASANOVA J. et TOMI F., 2000- Contribution de la RMN du carbone-13 à l'analyse des huiles essentielles. Ann. Falfs. Exp. Chim., Vol.98, n° 952, pp. 313-330.
- CHAGAS, DE SUZA A.C., PASSOS, MASCARENHAS W., PRATES and TEIXEIRA H., 2002- Acaricide effect of Eucalyptus sp essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. Braz. J.V et. Res. Anim. Sci., vol.39, n°5, pp. 247-253.

- CHAPOT H. ET DELUCCHI V.L., 1964 -Maladies, troubles et ravageurs des agrumes. Ed. INRA, Rabat, pp. 232-255.
- CHIASSON H., BELANGER A., BOSTANIAN N., VINCENT C. and POLIQUIN A., 2001-Acaricidal properties of *Artemissia absinthium* and *Tanacetum vulgare (Asteraceae)* essential oils obtained by three methods of extraction. J.Econ.Entomol. Vol.94, n°1, pp. 167-171.
- CHOUAT Z., 2004- Effet acaricides de quelques huiles essentielles vis-à-vis de *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval 1867 (Acari ; Tetranychidae). Mém. Ing.agro. INA el Harrach , 61p.
- COATS J.R., KARR L.L. and DREWES C.D., 1991 Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids insects and earthworms . Am. Chem. Soc. Symp., Ser. 449, pp. 306-316.
- COLMAN W.M. and GORDON B.M, 1991 Gaz Chromatography matrix Isolation-Fourier Transform-Infrared Spectrometry of natural products. J. chromatog. Sci., n° 29, pp. 371-376.
- COULON J., 1958 Efficacité comparée de quelques produits acaricides. Phytiatrie, phytopharmacie, pp. 127-132.
- CROOKER A., 1985 embryonic and juvenile development p.p. 149-163 in W. HELL and N.W. SABELLIS, spider mites their biology, natural enemies and control. Ed. ELSEVIER, new-york, vol.1A, 405 p.
- DAVIS D.W., 1952 Influence of population density on *Tetranychus multisetis*. J. Econ. Entomol., n°45, pp. 652-654.
- DE FEO V., BRUNO M., TAHIRI B., NAPOLITANO F. and SENATORE F., 2003-Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from *Thymus spinulosis* Ten (*Lamiaceae*). J. Agric. Chem., n° 51, pp. 3849-3853.
- Deysson G., 1978-Organisation et classification des plantes vasculaires. Ed. SEDES et CDVI, T. II, 381 p.
- DIDIER R. et FOURNIER J., 1983- Manuel de chimie organique. Ed. Mc.GRAW HILL. 391 p. .
- DOSS G., 1963- Kreuzungsversuch zur klÄrung der artenfrage im Tetranychus urticae Telarius complex (Acarina:Tetranychidae). Pflanzenschutz-ber. n° 29,pp. 143-159.
- DUPONT, L.M., 1979- On gene flow between *Tetranychus urticae* Koch, 1836 and *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) Boudreaux, 1956 (Acari: Tetranychidae): synonymy between the two species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, vol. 25, n° 3, pp. 297–303.
- DURVELLE J.P., 1930 Fabrication des essences et des parfums chimie des parfums. Ed. Desforges, Girardot et Cie, Paris, 807 p.
- EL ABED D. et KAMBOUCHE N., 2003 Les huiles essentielles. Ed. DAR EL GHARB, Oran, 91p.
- EL-GUEDOUI R., 2003- Extraction des huiles essentielles du Romarin et du Thym. Comportement insecticide des ces deux huiles sur *Rhyzopertha dominica*(Fabricus)

- (Coleoptera, bostrychidae). Thèse ing., E.N. Polytechnique, Dept. Genie chimique, El-Harrach, 76 p.
- EL NAHL A.K.M., SCHMIDT G.H. and RISHA E.M., 1989- Vapours of *Acorus* calamus oil A sapce treatment for stored product insects. Journal of stored products research, vol.25, issue 4, pp. 211-216.
- ENAN E., BEIGLER M. and KENDE A., 1998- Isecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches effects on octopamine receptors. Paper presented at the international symposium on plant protection. Gent, Belgium.
- FAUVEL G., 1999- Systématique et biologie sommaires des acariens nuisibles. PHM revue horticole, n°399, pp. 18-19.
- FAUVEL G., NAIBO B. et TESSIER P., 1987- Les acariens Tétranyques (*Tetranychus urticea, Tetranychus turkestani*). Phytoma, n° 388, pp. 23-27.
- FENGYING G., ZHI-QIANG ZHANG and ZHIMO ZHAO, 1998- Pesticide resistance of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari:Tetranychidae) in China: a review Systematic and applied acarology, vol.3, pp. 3-7.
- Funk and Wagnalls, 2004-Encyclopédie britannique Funk & Wagnalls. URL : <a href="http://www.Funkandwagnalls.com">http://www.Funkandwagnalls.com</a>.
- GARNERO J., 1996 Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345, pp. 1-45.
- Gershenzon J., McCaskill D., Rajaonarivony J.I.M., Mihaliak C., Karp F. and Croteau R., 1992 Isolation of secretory cells from plant glandular trichomes and their use in biosynthetic studies of monoterpenes and other gland products. An. Biochem. vol. 200, pp.130–138.
- GERSON U. and ARONOWITZ A., 1989 Spider mite webbing.V.The effect of various host plants. Acarologia, n°22, pp. 277-281.
- GOFF I., 1986- Spider mites (Acari: Tetranychidae) in the hawaiian islands. Iternational journal of acarology, vol.12, n°1, pp. 43-49.
- GOLIK Z., 1975- A study of the destructiveness of the fruit tree re spider mite Panonychus ulim (Koch) on appel. Zesz. Probl. Pestepow Nauk Rolm, n°171, pp. 15-34.
- GUESSOUM M., 1988 L'Acarofaune de quelques cultures et écologie de *Panonychus palmi* (Koch) et de *Cenopalpus pulcher* (Can. Et Fanz.) Sur pommier en Mitidja et d'*Oligonychus afrasiaticus* (Mc Gregor) sur palmier dattier. Essai d'efficacité de quelques insecticides et acaricides. Thèse magistère, sci.nat.agr., inst.nat.agr., El-Harrach, 250 p.
- GUIGNARD J.L., 1996- Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris, 255 p.
- GUTIERREZ J., 1969- Tetranychidae nouveaux de Madagascar (cinquième note), Acarologia, vol.11, n° 1, pp. 43-64.
- GUTIERREZ J., 1989- Les acariens phytophages et quelques-unes de leurs caractéristiques biologiques. Inst. nat. rech. agro., coll. Acarol. Cult. Ann., A.N.P.P., vol 1/1, N° 2, pp. 9-26.
- HAMMADI K., 1994- Etude de l'Acarofaune des *Citrus* en Mitidja. Thèse ing., sci.agr., inst.nat.agr., El-Harrach, 83p.

- HATZINICOLIS E.N., 1970- Hôtes *Tetranychus urticae* Koch et l'importance économique pour la Grèce. Ann. Inst., phytopathologie, banaki, n° 5-9, pp. 219-229.
- HAZAN A., GERSON U. and TAHOURI S., 1973- Life history and life tables of Carmine spider mite. Acarologia, vol.15, pp. 414-440.
- HEBBERT H.J. and BUTLER K.P., 1973- The effect of european red mite *Panonychus ulmi* (Acarina ;Tetranychidae) infestations on N, P, and K concentrations in appel foliage throughout the season. Can. Entomol., n° 105, pp. 263-269.
- HEDGES L.M. and WILKINS C.L., 1991- Compnents analysis of Eucalyptus oil by gas chromatography-fourier transform-infrared spectrometry- mass spectrometry .J.Chromatograp.Sci, n°29, pp. 345-350.
- HELL W. and OVERMEER W.P. 1985 Spider mites, their biology, natural and control. Vol. 1 A, Elsevier science publish hers B.V., Amesterdam, pp. 331-333.
- HELL W. and PIJNACKER L.P.,1985- Parthenogenesis chromosomes and sex in HELL and SABELIS M.W., spider mites, their biology, natural enemies and control. Ed. ELSEVIER, Amesterdam, vol.1 A, pp. 129-139.
- HESSEIN N.A., 1975- Morphology and biology of carmine mite *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acarina:Tetranychidae). The liban journal of agriculture, vol.4, pp. 117-772.
- HUANG M.T., FERRARO T. and HO S.H, 1994- Cancer chemoprevention by phytochemicals in fruits and vegetables. Am. Chem.Soc.Sympo., Ser.546, pp. 2-15.
- HUDAIB M. Speroni E., Di Pietra A.M. andCavrini V., 2002- GC/MS evaluation of Thyme (*Thymus vulgaris L.*) oil composition and variations during the vegetative cycle. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, vol.29, pp. 691-700.
- IMDORF A., BOGDANOV S., OCHOA R.I. et CALDERONE N.M., 1999- Utilisation des huile essentielles dans la lutte contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles. Centre Suisse de recherche apicole, Dept. Entom., Cornell University Ithaca, USA, 4p.
- ISMAN M.B. and MURRAY B., 2000 Plant essential oils for pest and disease management. Crop protection, n°19, pp. 603 608.
- ISMAN M.B., WAN A.J. and PASSREITER C.M., 2001- Insecticidal activity of essential oils of the tobaco cutworm *Spodoptera litura*. Fitoterapia, n°72, pp. 65-68.
- JEPPSON L., KEIFER H.H. and BAKER E.W., 1975- Mite injurious to economic plant. Univ. Californie, press, 614 p.
- JOULAIN D. and LAURENT R., 1989- Two closely related sesquiterpinols: 1-endo-Bourbonanoland 1,6 Germacradien-5-ol. Journal of essential oils research, n°1, pp. 299-301.
- KAMOUN P., 1987- Appareils et méthodes en biochimie. Ed. Fila Marion, 373 p.
- KECHOUT F. 2001- Efficacité de trois extraits végétaux et de deux insecticides vis-à-vis de *Sitophilus oryzae L.* (Coleoptera, Curculionidae). Thèse ing., sci.agr., inst.nat.agr., El-Harrach, pp. 30-35.
- KOVATS E., 1965 Gaz chromatographic characterization of organic substences in the retention index system. Advences in chromatography, Chap.7, pp. 229-247.

- KUANG H. and CHENG L., 1990- Studies on differentiation between two sibling species *Tetranychus cinnabarinus* and *T. urticae*. Acta Entomologica Sinica, n°33, pp. 109-115 [in chinese].
- KURITA N., MIYAJI M., KURAN R. and TAKAHARA Y., 1981- Antifungal activity of components of essential oils. Agric. Biol. Chem., n° 45, pp. 945-952.
- LAFON J.P., THORAND PRAGER C. et LEVY G., 1988- Biochimie structurale biologie des plantes cultivées. Ed. Lavoisier, Paris, T.1.
- LAPLANTE A.A. and SHERMAN M., 1976- Carmine spider mite. Cooperative extension service, college of tropical agriculture, insect pest, serries n°3, 2p.
- LEE S., PETERSON C.J. and COATS J.R., 1997- Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm (*Coleoptera : Chrysomelidae*), two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) and house fly ( Diptera: Muscidae). J.Econ.Entomol. vol.90, pp. 883 -892.
- LEE S., TSAO R. and COATS J.R., 1999- Influence of dietary applied monoterpens and derivatives on survival and growth of the European corn borer (Lepidoptera:Pyralidae). J.Econ. Entomol., vol.92, pp. 56-67.
- LEE S., PETERSON C.J. and COATS J.R., 2003- Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. Journal of Stored Products Research, Vol.39, Issue:1, pp. 77-85.
- LOISELEUR J., 1963- Techniques de laboratoire, Chimie physique chimie organique. 3<sup>ème</sup> Ed. Masson et Cie, T.1, Fasc.1, Paris, 742 p.
- LONGEVIALLE P., 1981- Principe de la spectrométrie de masse des substances organiques. Ed. Masson, Paris, 208 p.
- MAGDALLENA V.P., MEYER and HANIBALL, 1978- Common red spider mite *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Sci. bull. dep. agr. serv., sud Afr., n°31, pp. 47-50.
- MAKHLOUF H., 2002- Les huile essentielles du Romarin et du Clou de girofle : Approche analytique et activité antioxydante sur une huile alimentaire. Thèse ing., Sci.Nat.Agr., Inst.Nat.Agr., El-Harrach, 63 p. .
- MANSOUR F.A., RAVID U. and PUTIEVSKY E., 1986- Studies of the effect of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus*. Phytoparasitica, n°14, pp. 137-142.
- MANSOUR F.A., AZAIZAH H., SAAD B., TADMOR Y., ABO-MOCH F. and SAID O.-2004- The potential of middle eastern flora as a source of new safe bio-acaricides to control *Tetranychus cinnabarinus*, the carmine spider mite. Phytoparasitica, Vol. 32, n° 1, pp. 66-72.
- MASSADA Y., 1976- Analyse of essential oils by gas chromatography and spectrometry. ED Jhon Willey et son, New York.
- Mc Caskill D.G., Gershenzon J. and Croteau R., 1992- Morphology and monoterpene biosynthetic capabilities of secretory cell clusters isolated from glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita* L.). Planta, vol. 187, pp. 445–454.

- Mc MURTRY J.A., 1977 Some predaceous mites (*phytoseiidae*) on *citrus* in the mediterranean region. Entomophaga, n°22, vol..1, pp. 19 -30.
- MITCHELL R., 1972 The sex ratio of spider mite *Tetranychus urticae*. Entomol.Exp.Appl., n°15, pp. 299-304.
- MITCHELL R., 1973 growth and population dynamics of a spider mite *Tetranychus urticae* K. Ecology , n°54, pp.1349-1355.
- MITICHE F., 1979- Les acariens des agrumes dans la zone agrumicole de Mitidja. Thèse ing., sci.nat.agr., inst.nat.agr., El-Harrach, 95 p.
- MISRA G. and PAVLOSTATHIS S.G., 1997- Biodegradation kinetics of monoterpenes in liquid and soil slurry systems. Appl. Microbiol.Biotechnol., n°47, pp. 572-577.
- MOMEN F. M. and AMER S.A.A, 1994- Effects of some foliar extracts on the predatory mite *Amblyseius barkeri* (Acarina:Phytoseiidae). Acarologia, TXXXV, fasc.3, pp.48-51.
- MONDELLO L., DUGO G., DUGO P. and BARTLE K.D., 1996- on-line HPLC-HRGC in the analytical of Citrus essential oils. Perfumer et Flavorist, n°19, pp. 5-17.
- MONNET Y. et CAUQUIS F., 1999- Les acariens des cultures légumières. PHM revue horticole, n°399, pp. 20-26.
- MOUACI D., 1990- Recensement des ravageurs des cultures maraîchères sous serre et biologie de *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari ; Tetranychidae) et essai d'efficacité de quatre acaricides. Thèse Ingénieur d'Etat, Inst.Nat.Agr., El-Harrach, 83p. .
- NACER BYE N., 2003- Etude des huiles essentielles (essences végétales) de quelques plantes algériennes : caractérisation chimique et valorisation agronomique. Mém. Magistère, Inst., Nat., Agr., El-Harrach, 128 p..
- NATOURI N. et LELLOUCHI C., 1991- Influence de la température sur les paramètres biologiques et démographiques de quelques générations successives de *T. Cinnabarinus* (Acari ;Tetranychidae) et dynamique de population sous serre. Thèse ing., sci. nat. agr., inst. nat. agr., El-Harrach, 76p.
- NGAMO T.S.L., 2004- A la recherche d'une alternative aux polluants organiques persistants. Bulletin d'informations phytosanitaires, analyse scientifique, n°43. 4p. .
- NGOH S.P., HOO L., PANG F.Y., HUANG Y., KINI M.R. and HO S.H., 1998-Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituets of essential oils against the American cockroach *Periplaneta americana* L. Pestic. Sci., n°54, pp. 261-268.
- OVERMEER W.P.J., 1972- Note on mating behaviour and sex ratio control of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). Entomol. Ber., n°32, pp. 240-244.
- PAPACHRISTOS D.P and STAMOPOULOS D.C.- 2002- Repellent, toxic and reproduction inhibitory eddects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera:Bruchidae). Journal of stored products research, Vol.38, Issue: 2, pp. 117-128.
- PATTERSON C.G., KNAVEL D.E., KEMP T.R. and RODRIGUEZ J.G., 1975- Chemical basis for resistance to *Tetranychus urticae* Koch in tomatoes. Environ., Entomo., vol.4, pp. 670-674.

- PINO J.A., y BORGES P., 1993- Los componentes volatiles de las Especias. V. Laurel. Nahrung, Vol.37, n°6, pp. 592-595.
- PRADEAU D. et COHEN Y., 1992- L'analyse pratique du médicament. Ed. Médicales Internationales, pp. 418-428.
- QUEZEL P. et SANTA S., 1963- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, T. II, Paris, 1165 p. .
- REGNAULT-ROGER, CATHRINE, HAMRAOUI and ABDELAZIZ, 1995-Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a Bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of stored products research, vol. 31, issue 4, pp. 291-299.
- RICE P.J. and COATS J.R., 1994- Insecticidal properties of monoterpenoid derivatives to the house fly (Diptera; Muscidae) and red flour beetle (*Coleoptera;Tenebrionidae*). Pestic. Sci., n°41, pp 195-202.
- RICHARD H., 1992- Epices et aromates. Ed. dec et doc Lavoisier, collection science et techniques alimentaires, Paris, 339 p..
- ROBENHORST J., 1996- Production of Methoxyphenol-type natural aroma chemicals by biotransformation of Eugenol with a new *Pseudomonas sp* .Appl. Microbial. Biotechnol., n°46, pp. 470-474.
- ROUESSAC C.F. et ROUESSAC A., 1992- Les plans d'expériences : de l'expérimentation à la qualité. AFNOR, Nouvelle Edition, 405 p.
- SAHEB D., 1999- Fluctuation saisonière des populations de *Cenopalpus pulsher* (Canestini Sanzago, 1954) (Acari ;Tenuipalpidae) dans un verger de neflier de japon (*Eriobotrya japonica*) et efficacité de trois extraits foliaires et d'un acaricide. Mem. Ing., Sci. Agr., Inst.Nat.Agro, El-Harrach, 66 p. .
- SAMMATRO D., DEGRANDI-HOFFMAN G., NEEDHAM G. and WARDELL G. 1998-Some volatile plant oils as potential control agents for Vorra mites (Acari; Varroidae) in honey bee colonies (*Hymenoptera; Apidae*). Am.Bee J., n° 138, pp. 681-685.
- SÀNCHEZ-RAMOS I. and CASTA#ERA P., 2000- Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* Schrank, a mite of stored food. Journal of stored products research, vol. 37, issue 1, pp. 93-101.
- SALLÉ J.L., 1997- Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympaticothérapie. Ed. Frison-Roche, Paris, 21 p.
- SANCES, F. V., J. A. WYMAN, and I. P. TING. 1979. Physiological responses to pider mite infestation on strawberries. Environ. Entomol, Vol. 8, pp. 711-714.
- SAVIDAN L. and ROSSER R., 1998- Chromatographie. Encyclopaedia Universalis, CD-ROM, France.
- SCHENK P., IMDORF A. et FLURI P., 2001- Effet de l'huile de neem sur l'acarien Varroa et les abeilles. Centre Suisse de recherche apicole, Dept. Entom., Liebefeld, 5p.
- Sharma S., Sangwan n.s. and Sangwan R.S., 2003- Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint. Current science, Vol. 84, n °25, pp. 544 550.

- SHATAR S. and ALTANTETSEG S., 2000- Essential oil composition of some plants cultivated in Mangolian climate. J. Essent. oil Res., N°12, pp. 745-750.
- SINGH A.K., DIKSHIT A., SHARMA M.L. and DIXIT S.N., 1980- Fungitoxic activity of some essential oils .Econ.Bot., n°34, pp. 186-190.
- SINGH R.N. and SINGH J. 1999- Evaluation of azadirachtine and some conventional acaricides against two spotted mite *Tetranychus urticae*. Indian J. Entomol., n°61, pp. 188-191.
- SOON-II K., JUNG-YEON R., DO-HYOUNG K., HAN-SEUNG L., YOUNG and JOON A., 2003- Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. Journal of stored products research, vol.3, issue: 3, pp. 23-303.
- STAGMULDER A., 1980- la nouvelle muse du parfumeur (la chromatographie phase gazeuse). Parfums, Cosmétiques, Arômes, n°35, pp. 35-37.
- STROH J., WAN M.T, ISMAN M.B. and MOUL D.J., 1998- Evaluation of the acute toxicity to juvenile pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils. Bull. Environ. Contam. Toxicol., n°60, pp. 923-930.
- TADJET S., 2002- Extraction et identification des huiles essentielles du Laurier noble. Thèse ing., Sci.Nat.Agr., Ist.Nat.Agr., El-Harrach, 55 p.
- TAPONDJOU L.A., ADLER C., BOUDA H. and FONTEM D. A. 2002- Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as postharvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of stored products research, vol.38, issue 4, pp. 395-402.
- TAPONDJOU L.A., ADLER C., BOUDA H. et FONTEM D. A., 2003- Bio efficacité des poudres et huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche de niébé : *Calusobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera, Bruchidae). Cahier d'étude et de recherches francophones, Agricultures, vol.12, n° 6, pp. 7-401.
- TEDONKENG P.E., AMVAM ZOLLO P.H., TENDONKENG F., KANA J.R., FONGANG M.D. et TAPONDJOU L.A., 2004- Composition chimique et effet acaricide des huiles essentielles des feuilles de *Chromolaena odorata* L. King et Robins, et *d'Eucalyptus saligna* Smith, sur les tiques *Rhipicephalus innulatus* Neumann de la chèvre naine de Guinée dans l'Ouet-Cameroun. Livestock Research for Rural Developement, Vol.16, n°9, pp. 1-7.
- THURLING D.J., 1980- Metabolic rate and life stage of the mites *Tetranychus cinnabarinus* boisd. (Prostigmata)and *Phytoseiulus persimilis* A-H (*Mesostigmata*). Oecologia, Berlin, n°46, pp.391-396.
- TOMCZYK A. and KROPCZY#SKA D., 1985- Effects on the host plant in W. HELL and N.W. SABELLIS, spider mites their biology, natural enemies and control. Ed . ELSEVIER, NEW-YORK, vol. 1A, 405 p.
- TRANCHANT J., 1982- Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris, pp. 322-334.
- TUNI L. and SAHINKAYA S., 1998- Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. Entomol.Exp.Appl., vol.86, pp. 183-187.

- Turner G., Gershenzon J., Nielson E.E., Froehlich J.E. and Croteau R., 1999 Limonene Synthase, the Enzyme Responsible for Monoterpene Biosynthesis in Peppermint, Is Localized to Leucoplasts of Oil Gland Secretory Cells.Plant Physiology, Vol. 120, pp. 879 886.
- VAN DE VRIE M., Mc MURTRY Y. and HUFFAKER G.B., 1972- Ecology of *Tetranychidae* mites and their natural enemies. A review II, biology, Hilgardia, vol. 27, n°1, pp. 15-20.
- VEERMAN A., 1970- Carotenoide metabolism in *Tetranychus urticae* Koch (*Acari;Tetranychidae*) .Comp. Biocham. Phsiol., 47 B, pp. 101-116.
- VERNOU F. et RICHARD H., 1976 Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. APRIA, vol.2, n° 10 , pp. 151-166.
- Wagner G.J., Wang e. and Shepherd R.W., 2004 New Approaches for Studying and Exploiting an Old Protuberance, the Plant Trichome. Annals of Botany, Vol. 93, n°1, pp. 3 11.
- WILSON C.L., SOLAR J.M., EL GHAOUT A., and WISNIEWSKI M.E., 1997- Rapid evaluation of plant extracts and essential oil for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant Dis., n° 81, pp. 204-210.
- WON-IL CHOI, SANG-GEUI LEE, HYUNG-MAN PARK and YOUNG-JOON AHN, 2003-Toxicity of Plant Essential Oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology; decembre, pp. 553–558
- WRENSCH D.L. and YOUNG S.S.Y, 1975 Effect of quality of ressource and fertilization status on some fitness traits in the two-spoted mite Tetranychus urticae Koch . Oecologia, n°18, pp. 259-267.
- WRENSCH D.L. and YOUNG S.S.Y., 1978- Effects of density and host quality on rate of development, survivorship, and sex ratio in the carmine spider mite. Environ. Entomol., n°7, pp. 499-501.
- WRENSCH D.L. and YOUNG S.S.Y., 1983- Relationship between primary and tertiary sex ratio in the two spotted spider mite (*Acarina: Tetranychidae*). Ann. Entomol. Soc. Am., n°76, pp. 786-789.
- ZHI-QIAHG and JACOBSON R.J., 2000- Using adult femals morphological characters for differating *Tetranychus urticae* complex (Acari: *Tetranychidae*) from greenhouse tomato crop in UK. Systematic and applied Acarology, vol.5, pp. 69-76.
- ZUKUVA V.P., 1963- Feeding mechanisms of the spider mite *Tetranychus telarius*, TR. Nauchno Issled. Inst. Zashch. Rast. Uzb. SSR, n°6, pp. 13-18 (in Russian).