



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Filière: Sciences Biologiques

Option : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Présentée par: BESSEDIK ZINA

BAHRI Bakhta

THÈME

**Evaluation de L'effet insecticide de l'extrait
méthanoïque et les huiles essentielles des feuilles
de *Calamintha nepeta* vis-à-vis des pucerons des
agrumes**

Devant le jury

| | | |
|-----------|-------------------------|----------------------------|
| Président | Melle BADAOUI .I | M C B U. Mostaganem |
| Examineur | Melle BADAOUI .I | M C B U. Mostaganem |
| Encadreur | Mme SAIAH. F | M C B U Mostaganem |

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Louange à Allah, le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail

J'exprime d'abord mes remerciements et ma vive reconnaissance à **Mme. SAIH. F M.C.B** Uau département de biologie, faculté de science de la nature et de la vie, Université AbdelhHamid Ibn Badis de Mostaganem pour avoir accepté de m'encadrer. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude et de déférence.

Je tiens à remercier **Mme BOURGHOLE.S** l'université d'AbdelhHamid Ibn Badis de Mostaganem d'avoir acceptée la présidence du jury de ce travail, qu'il trouve ici toutes mes expressions respectueuses.

Je tiens à exprimer ma très grande considération, et mon profond respect à **Melle BADAWLI** dans la faculté de science de la nature et de la vie université AbdelHamid Ibn de Mostaganem d'avoir acceptée de juger ce modeste travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement dans la réalisation de ce travail, et surtout pour **Mr. DEBBA.M.B.** Pour ses conseils.

Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie j'ai pu réaliser ce travail que je dédie : à la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma

vie ma mère et tata qui m'ont apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité à Mon cher père qui m'a appris les sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements à mes très chères sœurs : HADJER, HOURIA, FATIHA, IMENE.

Et mon frère : MOHAMED

à mes très chers amis et mes collègues (FARID, SAMIR et MOHAMED) de biologie la promotion 2018 à mon binôme BAKHTA

À toutes les personnes que je porte dans mon cœur et qui sans le savoir participent de manière considérable à ma réussite

Merci pour ton encouragement et ton soutien moral de ces jours où nos chemins se sont croisés

BESSEDIK ZINA

Dédicaces

je Dédie Ce Modeste Travail A ; Mes parents les plus proches De mon cœur ;
Mon père et mère QUI M'ont Encouragée et M'ont Donnes De l'aide Durant
Toutes Mes Etude , Que Dieu les protèges Et Accordés une longue vie Gravés
De bonheur Et de Bonne santé

A mon encadreur Madame SAIAH.F

A mes chère sœur Aicha ,Farah ,Sousou , Mona ,Zouzou ,Hasnia ,Tifinagh

A mon frère sofiane que je l'aime beaucoup et Brahim ma deuxième père e t
mes frères aussi Mokhtar ,Hamza ,Yucef, Smail.

A mes amis proches Adam et Miloud

A mes filles Ritaj et Rima et Maria et kawthar et Maram et mon fils Yacer et
Imad

A Toute la Famille et Tout mes Amies Zina , Meriem, Manal , Halouma ,Amina
et Mohammed et Sami .

A Mes professeurs qui aide moi durant toutes les année d'étude.

BAKHA BAHRI

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Partie bibliographiques

| | |
|--|----------|
| Chapitre1:Caractéristiques botaniques de la plante étudiée..... | 2 |
| 1-Présentation de la famille des lamiacées..... | 2 |
| 1-1- Place dans la systématique..... | 2 |
| 1-2- Le genre <i>Calamintha</i> | 2 |
| 1.3. L'espèce <i>Calamintha nepeta</i> | 3 |
| 1-3-1- Généralités..... | 3 |
| 1-3-2-Position systématique..... | 4 |
| 2-3-Description botanique..... | 4 |
| 2-4-Habitat et culture..... | 4 |
| 2-5-Utilisation et effet thérapeutique de la plante..... | 5 |
| 2-6-Précautions d'emploi..... | 5 |
| Chapitre2 : Généralités sur les Huiles essentielles..... | 6 |
| 2.1Les composés phénoliques..... | 6 |
| 2-1-1-les composés phénoliques de défense constitutive..... | 6 |
| 2-1-2-les composés phénoliques de défense induite..... | 6 |
| 2-1-3-Classification des polyphénols..... | 7 |
| 2-1-3-1-- Les acides phénols..... | 7 |
| 2-1-3-2- Les flavonoïdes..... | 8 |
| 2.2 : Les huiles essentielles..... | 9 |
| 2-2-1- Rôle biologique des huiles essentiels..... | 9 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2-2-Origine des huiles essentielles..... | 9 |
| 2-2-3-Propriétés chimiques..... | 10 |
| 2-2-4-Propriétés physiques..... | 10 |
| 2-2-5-Composition chimique..... | 11 |
| 2-2-5-1-Les terpènes..... | 11 |
| 2-2-5-2-Les mono terpène | 11 |
| 2-2-5-3- Les sesquiterpènes..... | 12 |
| 2-2-5-4-Composés aromatiques..... | 12 |
| 2-2-5-5-Composés d'origine diverses..... | 12 |
| 2-2-6- Toxicité des huiles essentielles..... | 13 |
| Chapitre3: le puceron vert..... | 14 |
| 3-Généralités sur les pucerons | 14 |
| 3-1-Les différentes sortes de pucerons..... | 14 |
| 3-1-1 Puceron vert..... | 14 |
| 3-2-Importances des dégâts causée par les pucerons..... | 15 |
| 3-3-moyenne de lutte contre le puceron vert..... | 16 |
| 3-3-1-Lutte préventive..... | 16 |
| 3-3-2-Lutte curative..... | 16 |
| 3-3-2-1-Lutte chimique..... | 16 |
| 3-3-2-2-Lutte biotechnique..... | 16 |
| 3-3-2-3-Lutte biologique | 17 |

Deuxième partie expérimentale

| | |
|--|----|
| Chapitre1 Matériels et méthodes | 18 |
| 1-1- Objectif | 18 |
| 1-2-La structure de stage..... | 18 |
| 1-3-Matériel animal..... | 19 |
| 1-5-Extraction..... | 20 |
| 1-5-1-Extraction par soxhlet..... | 20 |
| 1-5-2-L'évaporateur rotatif | 21 |
| 1-5-3-Extraction de l'huile essentielle..... | 22 |
| 1-5-4-Détermination du rendement | 23 |
| 1-5-5-Préparation des différentes dilutions de l'extrait méthanoïque..... | 23 |
| 1-5-6-Préparation des dilutions de l'huile essentielle..... | 23 |
| 1-6-Evaluation « in vitro » de l'effet de deux extraits (huile essentielle et extrait méthanoïque) des feuilles <i>Calamintha nepeta</i> sur <i>Aphispiraecola</i> | 24 |
| 1-6-1- Le taux de mortalité (%)..... | 25 |
| 1-6-2-Déterminer la DL50..... | 25 |
| Chapitre 2: Résultats et discussions | 26 |
| 2-Résultat et interprétations | 26 |
| 2-1-1-Rendement d extraction | 26 |
| 2-1-2- Evaluation « in vitro » de l'effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de <i>Calamintha nepeta</i> sur le puceron vert des agrumes | 26 |
| 2-1-1- Les résultats du test de traitement de l'huile essentielle de <i>Calamintha nepeta</i> sur les pucerons vert des agrumes | 28 |
| 2-3-discussions | 30 |
| Conclusion | 31 |
| Référence bibliographiques | |

Résumé:

Parmi les insectes inféodés aux agrumes, les pucerons occupent une place très particulière du fait qu'ils sont considérés aujourd'hui parmi les insectes ravageurs les plus importants induisant des pertes économiques notables.

Dans une perspective de chercher de nouveaux auxiliaires susceptibles d'être utilisés en lutte biologique contre ces ravageurs. Ce travail a porté sur l'évaluation de l'efficacité bio insecticide de l'extrait méthanoïque et de l'huile essentielle des feuilles et tiges de *Calamintha nepeta* sur les adultes de l'espèce aphidiennes, *Aphis spiraecola*.

Les résultats obtenus montrent que les deux extraits ont démontré une action insecticide avérée vis-à-vis des espèces de pucerons d'agrumes avec une efficacité plus marquée de l'huile essentielle avec une DL50 de 0,08%. De même l'extrait méthanoïque a été très efficace avec une DL50 de 2 %.

L'action insecticide remarquable des deux extraits incite à utiliser l'espèce comme source de composés naturels bioactifs.

Mots-clés: *Calamintha nepeta* L; huile essentielle; extrait méthanoïque, activité insecticide, DL50.

ABSTRACT

Among citrus-infested insects, aphids occupy a very special place as they are considered today among the most important insect pests inducing significant economic losses.

From a perspective of seeking new auxiliaries likely to be used in biological control against these pests. This work focused on the evaluation of the bio-insecticidal efficacy of the methanoic extract and the essential oil of the leaves and stems of *Calamintha nepeta* on adults of the aphid species, *Aphis spiraeicola* .

The results obtained show that both extracts demonstrated a proven insecticidal action against citrus aphid species with a more marked efficacy of the essential oil with an LD50 of 0.08%.

Similarly, the methanoic extract was very efficient with an LD50 of 2%.

The remarkable insecticidal action of both extracts encourages the use of species as a source of bioactive natural compounds.

Keywords: *Calamintha nepeta* L; Essential oil; methanoic extract, insecticidal activity, LD50.

الملخص

من بين الحشرات الموبوءة بالحمضيات ، تحتل حشرة المن مكانًا خاصًا جدًا حيث تعتبر اليوم من بين أهم الآفات الحشرية التي تسبب خسائر اقتصادية كبيرة.

من منظور البحث عن مساعدين جدد من المرجح أن يستخدموا في مكافحة البيولوجية ضد هذه الآفات. يركز هذا العمل على تقييم فعالية المبيد الحيوى للمستخلص الميثانويك والزيت العطري لأوراق وسيفان كالمينتا نيبينا على البالغين من نوع المن ، أفس سبرايكولا ،

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن كلا المستخلصين أظهروا فعالية مبيدات حشرية أثبتت فعاليتها ضد أنواع من الحمضيات مع فعالية أكثر وضوحا للزيت الأساسي بنسبة LD50 تبلغ 0.08%. وبالمثل ، كان مستخلص ميثانويك فعال جدا مع LD50 من 2%.

العمل المثير للمبيدات الحشرية من كلا المقتطفين يشجع على استخدام الأنواع كمصدر للمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيا.

كلمات البحث:

كالمينتا نيبينا (النابتا)؛ زيت اساسي؛ مستخلص ميثانويك ، نشاط مبيد للحشرات .

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure1: la plante <i>Calamintha nepeta</i> | 3 |
| Figure2: Différentes classes de flavonoïdes | 8 |
| Figure3 : Puceron vert des agrumes; <i>Aphispiraeocola</i> | 14 |
| Figure4 : Montagne de kalaa de Sidi Aissa wilaya de Chlef..... | 18 |
| Figure5: La carte de situation de la zone d'échantillonnage de la plante étudiée..... | 18 |
| Figure6: vue sous binoculaire du puceron vert des agrumes..... | 19 |
| Figure7: Dispositif d'extraction Soxhlet..... | 20 |
| Figure8: Le rota vapeur..... | 21 |
| Figure9: Récupération de l'extrait brut de <i>Calaminthanepeta</i> | 21 |
| Figure10 : L'extraction par hydro distillation..... | 22 |
| Figure11: Protocol du test de l'effet insecticide de différentes doses des extraits de napta sur les pucerons verts | 24 |
| Figure12: l'évolution du taux de mortalité d' <i>Aphispiraeocola</i> , puceron vert des agrumes après traitement par l'extrait méthanoïque des feuilles de <i>Calamintha nepeta</i> | 26 |
| Figure13: Taux de mortalité d' <i>Aphispiraeocola</i> , puceron vert des agrumessous l'effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de <i>Calamintha nepeta</i> enregistré le 3 ^{ème} jour..... | 27 |
| Figure14: l'évolution du taux de mortalité de l'huile essentielle desfeuilles de <i>Calamintha nepeta</i> sur le <i>Aphispiraeocola</i> , puceron vert des agrumes..... | 28 |
| Figure15: Taux de mortalité de <i>Aphispiraeocola</i> , puceron vert des agrumes sous l'effet de huile essentielles des feuilles de <i>Calamintha nepeta</i> enregistré le 3 ^{ème} jour..... | 29 |

Liste des Abréviations

- **AC%** : Acétone à 70% .
- **C°** : degré Celsius .
- **DL50** : dose létale pour 50% de population .
- **EPP** : Extraction poly phénolique .
- **ED** : eau distillé .
- **g** : gramme .
- **m**: Mètre .
- **MC%** : Taux de mortalité corrigée% .
- **SM** : solution mère .
- **TM%** : Taux de mortalité % .
- **%** : pourcentage .
- **et al.** : et collaborateurs.

Introduction

En Algérie, l'agrumiculture occupe une place importante, et représente pour le pays un intérêt économique et social car c'est une source économique et d'offre d'emploi.

Une relance de l'agrumiculture en Algérie est enregistrée ces dernières années à travers aussi bien le rajeunissement des vergers existants que la création de nouveaux vergers dans les zones de prédilection. Pour les nouveaux vergers agrumicoles, il est noté également la mise en place de système d'irrigation en goutte à goutte avec une conduite en intensif. Ce qui a pour conséquence une pullulation d'un nombre importants de bioagresseurs.

Parmi les insectes ravageurs, inféodés aux agrumes, les pucerons occupent une place très particulière. Les particularités biologiques et éthologiques de ces aphides, notamment leur potentiel biotique extraordinaire et leur surprenante adaptation à l'exploitation maximale du milieu par leur polymorphisme, en font les déprédateurs majeurs de cette culture

La lutte efficace contre ces ennemis de culture est réalisée par l'application massive des insecticides de synthèse, qui restent responsable de plusieurs problèmes environnementaux, de santé humaine et la base de la sélection d'une population résistante (Nauen et *al.*, 2003).

Les recherches sur le développement d'une lutte biologique contre les principaux ravageurs des cultures sont orientées principalement sur l'utilisation des biopesticides à base d'extraits de plantes. Dans ce cadre, nous avons fixé pour objectif étudié l'effet de l'extrait méthanoïque et l'huile essentielle de la plante *Calamintha nepeta* sur le puceron vert des agrumes.

Chapitre 1 Généralitéssur calamintha nepeta

La famille des lamiacées ou labiées aussi nommée labiacées (Guignard, 1998), est considérée comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences (Guignard,1996). Cette famille de plantes angiospermes dicotylédones comprend environ 258 genres et 6970 espèces (Botineau, 2010).

La famille des lamiacées est une famille très importante dans la flore d'Algérie, ces espèces sont souvent des plantes herbacées, ou sous arbrisseaux à poils glanduleux, en général aromatiques. Leur tige est carrée, certaines espèces sont dressées, d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées. Les fleurs bisexuées, irrégulières groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins allongées ou en inflorescences terminales plus ou moins denses. Le calice est synsépale, bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle à tube très développé, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant une lèvre inférieure (Guignard 2001 ; Carr, 2004).

Le fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (Guignard, 1998).

1.1. Place dans la systématique

La place des lamiacées dans la classification systématique botanique est la suivante :

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : Népétoïdée(Quezel et santa, 1963 ; Guignard, 2001, Bray, 2005).

1.2. Le genre *Calamintha* :

Le genre *Calamintha* comprend au moins 8 espèces de vivaces aromatiques originaires des prairies des taillis et forêts tempérées de l'hémisphère nord.

Plutôt rustique, ils aiment les sols frais et bien drainé et les expositions ensoleillées voire mi-ombragées.

Le feuillage des *Calamintha* est ovale à oblong et denté, souvent duveteux. La floraison en cymes regroupant de petites fleurs tubulaires est dans les tons roses, bleus et blanc, couleurs pastel et douces.

Les fleurs sont aromatiques et attirent les abeilles.



Figure01: *Calamintha nepeta* (photo originale)

1.3. L'espèce *Calamintha nepeta*:

1.3.1. Généralités

Calamintha nepeta est plante vivace compacte utilisée dans les massifs fleuris et/ou aromatiques ainsi qu'en bac, dans les rocailles ou talus. Son feuillage est vert foncé et duveteux, assez petit, ovale dentelé.

La longue floraison de *Calamintha nepeta* est aromatique et estivale, les petites fleurs tubulaires mauves très pâles sont regroupées en cymes érigées.

1.3.2. Position systématique:

Domaine: Eucaryote.

Règne: plante.

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Lamiales.

Famille: Lamiaceae.

Genre: Satureja.

Espèce: *Calaminthanepeta*.

Sous espèce: *Calamintha nepetasubsp. nepeta*(Quezel et Santa, 1963)

Basionyme : *Melissa nepeta* L.

Nom français : Sarriette, baume sauvage, pouliot de montagne.

Nom italien : la nepitella.

Nom vernaculaire : Nabta, tourte, menta.

Synonymes

Melissa nepeta L.

Calamintha nepeta (L.)Savi

Calaminthaofficinalis var. *nepeta* (L.)

Saturejacalamintha var. *nepeta*

Saturejanepeta (L.) Sheele

Thymus nepeta (L.) Sm

2.3. Description botanique

Calamintha nepeta atteint une taille de 30– 40 cm et est très ramifiée depuis la base. Elle a des feuilles lancéolées et pointues à leur extrémité. Les tiges sont plus ou moins velues. Les fleurs, de couleur blanche à mauve, insérées à l'aisselle des feuilles, fleurissent de juillet à septembre (Specketal., 2008) .

2.4.Habitat et culture

Originnaire d'Europe du Sud, *Calamintha nepeta* pousse dans les lieux ensoleillés et bien drainés. Elle est souvent cultivée comme plante d'agrément. Les fleurs sont récoltées en été (Iserin, 2001).

En Algérie, on la rencontre dans les sous-bois mais aussi sur les terrains incultes, le bord des routes et dans le tell, surtout en montagne, jusqu'à 1500 mètres d'altitude (Quezel et Santa, 1963).

2.5. Utilisation et effet thérapeutique de la plante

Cette plante possède des vertus médicinales. Elle combat les flatulences, stimule la digestion, et traite les coliques. Elle a un effet «réchauffant» et on la préconise en cas d'infections des voies respiratoires (bronchite) (Iserin, 2001).

La plante est ainsi préconisée pour traiter les troubles digestifs, fatigue psychique, asthénie, infections intestinales, manque de concentration, parasites, diarrhée, arthrite, douleurs, problèmes de la libido, rhumatismes, maladies infectieuses, cystite, et stress (Buronzo, 2008).

2.6. Précautions d'emploi

L'huile essentielle de cette plante doit être utilisée sur une période courte, car elle peut irriter la peau, surtout si elle est utilisée pure. Elle est interdite aux enfants, et déconseillée aux femmes enceintes, à celles qui allaitent et aux personnes ayant la peau sensible. Il faut éviter de la mettre en contact avec les yeux et les muqueuses (Buronzo, 2008).

Chapitre 2. Généralités sur les extraits végétaux**2.1. les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénoliques considérés. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal (Bruneton, 1999).

2-1-1-les composés phénoliques de défense constitutive

Les systèmes de défense préventifs sont des barrières préformées qui peuvent être de nature physique ou chimique. Les défenses constitutives physiques constituent une barrière mécanique difficile à franchir par les micro-organismes pathogènes. Dans ce cas, la morphologie de la plante limite la progression des pathogènes. La cire, la cutine ainsi que la subérine sont des exemples de composés qui forment des structures physiques qui bloquent la pénétration ou empêchent efficacement la progression des micro-organismes parasites. (Korth, 2003.). Les barrières chimiques sont généralement des molécules solubles naturellement toxiques vis-à-vis des micro-organismes et des champignons parasites. On appelle phytoanticipines, ces molécules constitutives de faible poids moléculaires qui présentent ce caractère antibactérien ou antifongique (Korth, 2003.).

2-1-2-les composés phénoliques de défense induite

Le terme phytoalexine désigne les métabolites secondaires de faible poids moléculaire formés par la plante suite à une infection et possédant, entre autre, une activité antimicrobienne marquée. Les composés phénoliques de défense induite sont par définition des phytoalexines, cependant toutes les phytoalexines ne sont pas des composés phénoliques. Une grande variété de métabolites secondaires, dont de nombreux alcaloïdes et terpènes, répondent à cette définition. La frontière n'est pas toujours claire et une dualité existe dans la terminologie entre phytoalexine et phytoanticipine. On distingue deux groupes principaux de phytoalexines phénoliques: les stilbènes d'une part et les flavonoïdes d'autre part (Bruneton, 1999).

2-1-3-Classification des polyphénols

Selon Korth(2003),Les polyphénols possèdent plusieurs groupements phénoliques avec ou sans autres fonctions (alcooliques, carboxyles...). Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure en trois groupes principaux:

2-1-3-1-- Les acides phénols

Les acides phénols, ou acides phénoliques, ont une fonction acide et plusieurs fonctionsphénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories : Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sousforme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides (Bruneton, 1999). Exemple : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables.

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique(Haslam 1994).

2-1-3-2- Les flavonoïdes

L'appellation «flavonoïdes» rassemble une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représente le groupe de composés phénoliques le plus diversifié: plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés (Urquiaga et *al.*, 2000).

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (= flavus en latin) qu'ils engendrent. D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration; au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes.

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc(Benhamou, et *al.* 1996)

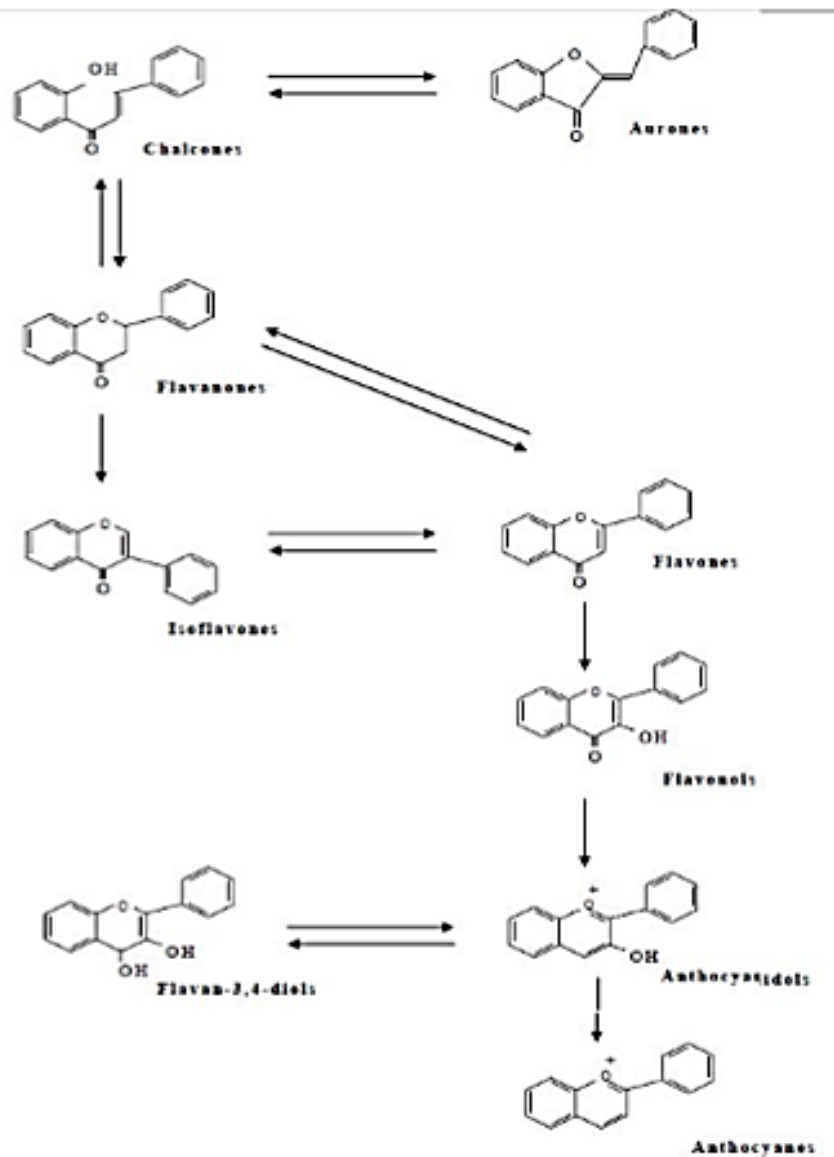


Figure 02: Différentes classes de flavonoïdes.

2.2 : Les huiles essentielles

Une huile essentielle est définie comme le produit obtenu d'une plante ou certaines parties de celui-ci par hydrodistillation, distillation à la vapeur, distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (par exemple pour les agrumes) (Rubiolo et *al.*, 2010).

Ce sont des liquides huileux aromatiques, volatils, caractérisés par une forte odeur, souvent colorés, et généralement avec une densité inférieure à celle de l'eau. Ils peuvent être synthétisés par tout organe végétal (fleurs, Bourgelons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (Burt,2004; Bakkali et *al.*, 2008).

Les huiles essentielles ne représentent qu'une petite fraction de la composition de la plante néanmoins, elles confèrent les caractéristiques par lequel les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques (Pourmortazavi et Hajimirsadeghi,2007).

2-2-1- Rôle biologique des huiles essentielles

Bien que de nombreuses hypothèses aient été avancées pour expliquer les raisons de la synthèse de l'essence par la plante, nul ne sait avec exactitude pourquoi la plante fabrique son essence. Mais ce qui est probable c'est que le rôle des huiles essentielles au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation (Richard, 1992).

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement. Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs. Un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales (Ex : laurier) le protège contre les herbivores. Le rôle des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces et du bois confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites telluriques (Richter, 1993).

2.2-2-Origine des huiles essentielles

Toutes les parties des plantes aromatiques, et tous leurs organes végétaux, peuvent contenir de l'huile essentielle.

- Les fleurs : oranger, rose, lavande; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang);

- Les feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin;
- Les organes souterrains: racines (vétiver, angélique), rhizomes (gingembre, acore);
- Les fruits: fenouil, anis, épicarpes des Citrus;
- Les graines : noix de muscade;
- Le bois et les écorces: cannelle, santal, bois de rose.

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont Vrai semblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores.

La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 1 à 2% voire moins, mais il y a des exceptions comme le clou de girofle avec 15% d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15%.

Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue les labiateae (famille du thym, de la lavande, de la menthe, du basilic), les asteraceae (camomille, absinthe), les myrtaceae (eucalyptus, melaleuca, myrte, girofle), les lauraceae (cannelle, laurier).

Beaucoup de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances voisines mais en pratique peu d'espèces sont utilisées (Hurtel, 2006).

2-2-3-Propriétés chimiques

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés de phénylpropane, beaucoup moins fréquents d'autre part (Bruneton, 1993).

2-2-4-Propriétés physiques

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles.

Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau; elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (on parle d'eau aromatique), (Bruneton,2008; Baser et Buchbauer, 2010).

2-2-5-Composition chimique

Sur le plan chimique, les HE sont des mélanges de structure extrêmement complexes, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène,β-pinène, γ-terpinène) et les sesquiterpènes (β-caryophyllène,α-humulène,β-bisabolène) (Croteau et *al.*, 2000).

2-2-5-1-Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈).

Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes (C₁₀H₁₆), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes (C₁₅H₂₄), les diterpènes, formés de quatre isoprènes (C₂₀H₃₂).

Les tetraterpènes sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.

Les polyterpènes ont pour formule générale: (C₅H₈)_n ou n peut être de 9 à 30

Les terpénoïdes sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide)(Bakkali et *al.*, 2008).

2-2-5-2-Les monoterpènes

Sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des H.E, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acyclique (myrcène,o-cymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique:

-Alcools: géranol, menthol.

-Aldéhydes: géranial, citronellal, sinsenal.

-Cétones : carvone, menthone, β-vétinone.

-Esters: acétate de géranyle, acétate de linalyl, acétate de cédryle, acétate α-terpinyle-

Peroxydes : ascaridol, allicine(Bruneton, 2008).

2-2-5-3- Les sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple: β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol (Bruneton, 1999).

2-2-5-4- Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes.

La biosynthèse par voie phénylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine, ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Également, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique. Les phénylpropanoïdes sont moins représentés dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae: (anis, fenouil, persil, cannelles (eugénole, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde) (Bruneton, 1999).

2-2-5-5- Composés d'origine diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, carbone (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C3 à C10), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones.

Dans les concentrations, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante non entraînés à la vapeur d'eau ; homologues des phénylpropanes, diterpènes coumarines (Bruneton, 1993).

2-2-6- Toxicité des huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles n'est pas à prendre à la légère. Les effets toxiques sont très variables d'une huile essentielle à l'autre et dépendent beaucoup de la sensibilité des consommateurs.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules, dont on peut distinguer deux groupes : les terpènes et les aromatiques.

Les terpènes et leurs dérivés sont formés d'unités isopréniques (unités pentacarbonnées ramifiées).

Pour cette gamme de composés, seules les molécules de poids faible, entre 10 et 20 atomes de carbones, sont présents dans les huiles essentielles. Par conséquent, elles peuvent plus facilement pénétrer notre peau et ainsi provoquer des allergies et des inflammations.

Cependant, ces effets sont provoqués majoritairement par d'autres composés comme les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique et les phénylpropanoïdes.

Les huiles essentielles contenant certains composés aromatiques, notamment les phénols et dérivés, comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol, sont à utiliser avec précautions. Ces molécules peuvent provoquer de sévères irritations sur les peaux sensibles ou les muqueuses.

De plus, les cellules du foie peuvent se trouver altérées, lorsque les doses prises sont élevées et que la durée de la cure est longue.

D'autres familles de composés s'avèrent être également toxiques. Ceux sont les cétones, les aldéhydes et quelques esters. Les conséquences sur notre santé vont de la photosensibilisation et aux risques d'avortement, dans les cas les plus graves.

3-Généralités

Les agrumessont aujourd'hui distribués dans toutes les parties du monde comprises entre l'équateur et des latitudes légèrement supérieures à 40° (Le Bellec et Le Bellec, 2007).

Le puceron est un insecte piqueurs-suceurs, appartenant à l'ordre des Hémiptères et à la famille des Aphidoïdae.ils s'attaquent principalement aux cultures légumières comme les tomates, aubergines, poivrons, courgettes, salades, fraisiers, mais aussi les céréales comme le blé ou l'orge.

Les dégâtsoccasionnée sont fonction d'une part de la durée de présence et de la quantité de pucerons sur la plante, d'autre part, du stade de développement de celle-ci et de son degré de sensibilité (Turpeau-ait ighil et *al.* , 2011).



Figure 03:Puceron vert des agrumes; *Aphis spiraecola*(originale, 2018) .

3-1-Les pucerons en culture d'agrumes

Les pucerons sont présents sur les vergers d'agrumes durant les trois grandes phases de la croissance végétative. On peut les retrouvés sur tous les organes, mais les colonies les plus importantes se trouve sur les jeunes pousses et leur feuillage (INPV, 2010). Les trois espèces rencontrées dans les vergers d'agrumes, sont *Aphis spiraecola* Patch, *Toxoptera aurantii* Boyer, et *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (puceron vert du pêcher) (INPV, 2010).

3-1-*Aphis spiraecola* patch

Ce sont des insectes de petite taille, environ 2mm de long, couleur vert clair à jaune vert, les pucerons ailés ont en général une couleur beaucoup plus foncée, brun

foncé le plus souvent, sauf l'abdomen qui est verdâtre, les pattes sont toujours noires (Sekkat, 2007).

3.1.2.Cycle évolutif

Plusieurs générations se développent au cours de l'année sur les *Citrus*. Dans le bassin méditerranéen, l'espèce est polyphage et se reproduit par parthénogenèse. Les femelles aptères sont présentes surtout au début de la saison et pendant la période froide; elles sont les fondatrices de nombreuses colonies larvaires au printemps. Les femelles ailées sont observées particulièrement pendant les périodes les plus chaudes de l'année et leurs pullulation sont moins importantes (INPV, 2010).

3.1.3.Importance économique et dommages

Cette espèce est très répandue dans le monde, elle est considérée par certains comme cosmopolite en Amérique, ce puceron est considéré comme l'un des ravageurs des *Citrus*, les plus dangereux.

Les populations sont plus importantes pendant le printemps provoquant la chute des fleurs. Ils occasionnent des dégâts sur les plantes : déformations, décoloration, voire chute prématurée des feuilles, dessèchement des pousses, formation de fumagine.(Girousse, et al. , 2005).

Et pour cause : les pucerons se nourrissent, en quantité, de la sève des plantes (leurs organes de prédilection étant les feuilles et les jeunes pousses), et pour y avoir accès, ils transpercent les tissus végétaux de leur appareil buccal. La plante se trouve ainsi affaiblie.

Deuxième inconvénient des pucerons : leur salive est irritante et toxique. Elle est responsable, notamment, des crispations du feuillage.

Troisième inconvénient : une partie de la sève absorbée est non digérée, et rejetée sous forme de miellat. C'est ce dernier qui est responsable de la fumagine (champignons formant un dépôt noirâtre), (Dedryver, 2007).

Enfin, il n'est pas à exclure que ce puceron est l'un des vecteurs du virus de la Tristeza, maladie très dangereuse des agrumes (Girousse, et al., 2005).

3-3-moyens de lutte

Le niveau des populations de pucerons dans les cultures est extrêmement variable d'une année à l'autre et peut évoluer très rapidement au sein d'une même culture. Il dépend bien sûr des capacités reproductives propres aux différentes espèces mais aussi de facteurs extérieurs dépendant de l'environnement physique et biologique. Ces facteurs peuvent être très nombreux, ce qui explique les différences rencontrées dans les tentatives de modélisation de leur influence sur le développement des populations de pucerons (Hull *et al.*, 1999).

3-3-1 - Lutte préventive

Elle se base sur les différentes pratiques culturales et l'entretien de la culture par l'enfouissement pendant l'hiver des plantes ayant reçu des œufs d'hiver. Ainsi que la destruction par des hersages ou sarclages des plantes sauvages susceptibles d'héberger des espèces nuisibles aux plantes cultivées au début du printemps (Wang *et al.*, 2000; Lambert, 2005).

3-3-2 - Lutte curative

3-3-2-1 - Lutte chimique

Pour réduire les dégâts d'insectes, l'utilisation des pesticides reste le moyen le plus largement utilisé et le plus efficace aujourd'hui (Ferrero, 2009).

Selon Hulle *et al.* (1999), les principes de la lutte chimique sont:

L'empêchement d'acquisition du virus lors de piqûres d'essai par l'utilisation d'huiles végétales non phototoxiques.

Le choix des produits: ils doivent être avant tout sélectifs afin de préserver la faune utile. Ces produits doivent aussi être dotés d'un effet de choc élevé, et d'une bonne rémanence, en plus ils doivent appartenir à des familles chimiques différentes afin d'éviter ou de retarder le phénomène de résistance. Il est de préférence que le choix porte sur des produits systémiques qui touchent même les pucerons protégés par l'enroulement des feuilles.

4-3-2-2 - Lutte biotechnique

Ce moyen de lutte est basé sur le comportement de certains insectes qui sont attirés par différents attractifs visuels (couleur) ou olfactifs (aliments, phéromones). Ces couleurs et ces substances peuvent être utilisés pour le piégeage de masse, le piégeage d'avertissement ou des traitements par tâches (Ryckewaert et Fabre, 2001).

3-3-2-3 - La lutte biologique

D'après l'organisation internationale de la lutte biologique contre les animaux et les plantes nuisibles l'O.I.L.B (1971); Huttier (2003) ; Lambert (2005) et Maison haute (2009), la lutte biologique est l'utilisation des organismes vivants (insectes, bactéries, nématodes,...) ou de leurs dérivés pour contrôler les populations de nuisibles et empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés aux cultures.

1-Matériel et méthodes

1-1-Objectif

Le but de ce travail consiste à évaluer le pouvoir insecticide de l'extrait méthanolique et de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta* récoltée de la région de Chlef, sur la mortalité du puceron vert des agrumes *Aphispiraeocola* dans le cadre de la valorisation des substances naturelles végétales.



Figure 04 :Montagne de kalaa de Sidi Aissawilayade Chlef(Photo originale,2018)

1-2-Matériel végétale

Les feuilles de *Calamintha nepeta* ont été récoltées au mois d'Avril(2018) ;d'un lieu nommé le château de Timici, un site archéologique situé à sidi Aissa à environ 50 km de la commune de Taougrit, wilaya de Chlef;

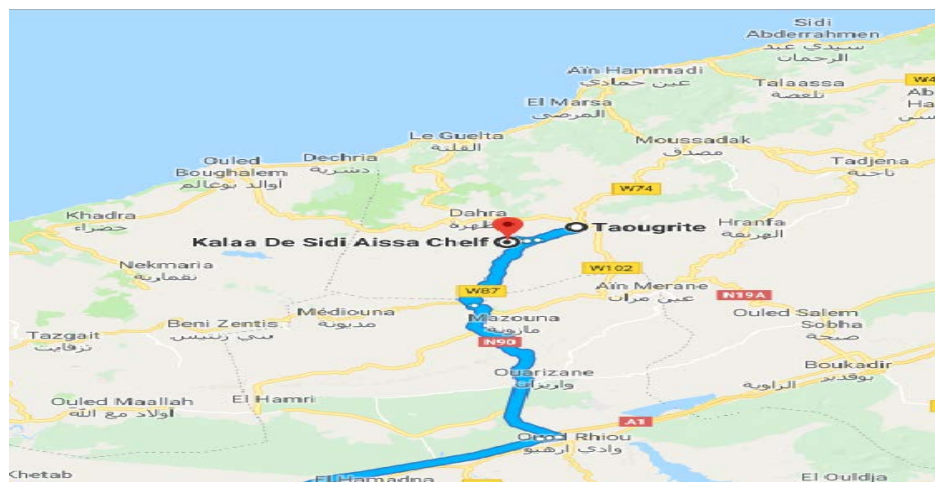


Figure05:La carte de situation de la zone d'échantillonnage de la plante étudiée

1-3-Matériel animal

Nous avons testé nos extraits sur les pucerons verts des agrumes provenant d'un verger d'agrumes privée située dans la région de taougrite Wilaya de Chlef.



Figure 06:vue sous binoculaire du puceron vert des agrumes (Photo originale,2018)

1-4-Extraction

1-4-1-Extraction par soxhlet

Ce travail à été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie, université de Mostaganem L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimies 1 et 2 de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Mostaganem.

L'extrait méthanoïque est obtenu en suivant les étapes ci- dessous

1-Placer 40g de la poudre séché dans une cartouche en papier filtre épais pour enfin être placer dans le réservoir de l'extraction Soxhletet récipients contenant 400ml, laisser sous agitation a une température de 60 °C.

2-Après plusieurs cycles (12cycles) successives d'extraction en contenu (cycle),le solvant(400ml de méthanol) contenant la matière à extraire retourne dans le ballon par déversement à travers le siphon situé dans le coude latéral.

3-L'extrait récupéré est concentrée par évaporation a sec à une température de (40 à 45°C) à l'aide d'un rota vapeur.

4 L'extrait obtenu est conservé dans le réfrigérateur.



Figure07:Dispositif d'extraction Soxhlet (Photo originale,2018).

1-5-2-L'évaporateur rotatif :

L'étape qui suit l'extraction est l'élimination du solvant par l'évaporation rotatif. l'appareil couramment utilisé pour éliminer un solvant d'un extrait est le rotavapeur.

Le mélange du solvant et du soluté est placé dans le ballon de droite. Celui-ci est plongé dans un bain-marie.il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroitre la surface d'évaporation du solvant. La pression à l'intérieur du montage est abaissée au moyen d'une trompe à l'eau ce qui augmente la vitesse d'évaporation. Après condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le ballon de gauche Ould Amar, 2013.



Figure 08:Le rota vapeur(Photo originale,2018)

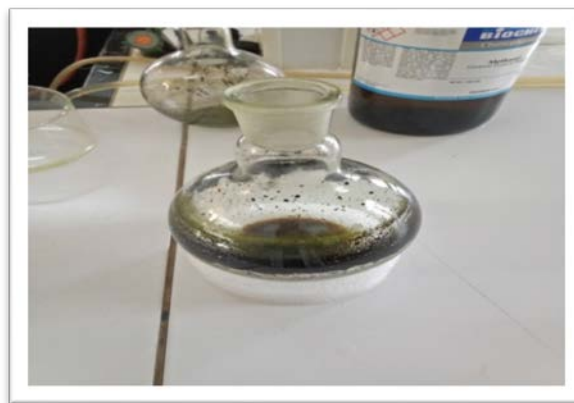


Figure 9: Récupération de l'extrait brut de *Calaminthanepta* (Photo originale, 2018).

1-4--3-Extraction de l'huile essentielle

Il existe diverses méthodes pour extraire les huiles essentielles, celle la plus utilisée étant la distillation par entraînement à la vapeur. L'extraction des huiles essentielles peut être réalisée à partir des fleurs, des feuilles, des racines ou encore des graines de la plante.

Datant de plus d'un millénaire, il s'agit de la méthode la plus ancienne et la plus utilisée pour obtenir une huile essentielle de qualité.

Il consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur, les huiles essentielles volatiles se libèrent. Ensuite cette vapeur d'eau et d'huile essentielle passe dans un serpentin refroidi par de l'eau. La vapeur se condense alors dans le serpentin, et retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments. En effet, l'huile essentielle est non miscible à l'eau et plus légère donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier.

Lors de notre étude l'extraction des huiles essentielles a été réalisée au laboratoire pédagogique du département des sciences biologiques de l'université de Mostaganem par la méthode d'hydrodistillation par entraînement à la vapeur. La méthode d'extraction consiste à prendre 750 g de la matière sèche de chaque plante (*Thymus vulgaris* et *Synapis arvensis*). Ces plantes sont coupées en petit morceaux au préalable pesée et mis dans une cocotte. La matière végétale est ensuite immergée dans l'eau distillée au deux tiers. La cocotte est ensuite déposée sur une plaque chauffante. La durée de distillation est de trois (03) heures. L'huile essentielle (phase surnageant) est séparée de l'eau à l'aide d'une micropipette.

Les huiles obtenues sont conservées dans des flacons en verre approprié, hermétiquement fermé et couvert d'une feuille d'aluminium à température comprise entre 4 et 6 °C pour éviter toute dégradation des H.E due à l'action de l'air et de la lumière.

Les huiles essentielles sont des substances très délicates et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples: photoisomérisation, photocyclisation, coupure oxydative de propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène) (BRUNETON, 1999). Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur (BRUNETON, 1999; VALNET, 1984).



Figure 10 : L'extraction par entraînement à la vapeur (Photo originale, 2018).

1-5-4-Détermination du rendement

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse de la matière végétale traitée. Ce rendement est calculé via l'équation :

$$R\% = (M_e/M_v) \times 100$$

R%: Rendement en %

Me: masse de l'extrait après évaporation de l'extrait

Mv: la masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998)

1-5-5-Préparation des différentes dilutions de l'extrait méthanoïque

L'extrait brut est solubilisé dans des volumes variables de l'eau distillée en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations (10%, 25%, 50% et 75%).

Les dilutions de l'extrait ont été préparées comme suit:

10% → On introduit 10ml extrait brut dans un tube à essais contenant 90 ml ED

25% → On introduit 25ml extrait brut dans un tube à essais contenant 75 ml ED

50% → On introduit 50ml extrait brut dans un tube à essais contenant 50 ml ED

75% → On introduit 75ml extrait brut dans un tube à essais contenant 25 ml ED

1-5-6-Préparation des dilutions de l'huile essentielle

On met 70% de l'acétone+30ml eau distillée pour avoir une solution mère (S.M)

→ 2% On introduit 2 ml huile essentielle dans un tube à essais contenant 98ml S.M

→ 1% On introduit 1ml huile essentielle dans un tube à essais contenant 99 ml S.M

→ 0.5% On introduit 0.5ml de l'huile essentielle dans un tube à essais contenant 99.5ml S.M

→ 0.25% On introduit 0.25ml de l'huile essentielle dans un tube à essais contenant 99.75ml S.M

1-6-Evaluation « in vitro » de l'effet de deux extraits (huile essentielle et extrait méthanoïque) des feuilles de *Calamintha nepeta* sur *Aphispiraeocola*.

Le test d'activité insecticide des extraits des feuilles et tiges de *Calamintha nepeta* sur le puceron vert *Aphispiraeocola* a été inspiré de la technique de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 1963)

Pour ce faire des boîtes de Pétri, ont été préparées, en confectionnant des ouvertures sur la partie supérieure de la boîte à l'aide d'un scalpel chauffé, puis en collant du tulle, pour permettre une circulation de l'air à l'intérieure de la boîte tout en empêchant les pucerons de s'enfuir, le fond est recouvert d'une couche de papier absorbant légèrement humide. Ce dernier permet de garder l'humidité et la fraîcheur de la feuille le plus longtemps possible.

20 pucerons vert des agrumes (*Aphispiraeocola*) portés sur des feuilles fraîches de bigaradier sont introduit dans 4 boîtes de Pétri à raison de 5 pucerons par boîte. Le traitement a été effectué par pulvérisation de l'extrait des feuilles et fleurs de sauge sur les lots de pucerons. Chaque lot reçoit une pulvérisation de chaque dose (soit 10%, 25%, 50% et 75% pour l'extrait méthanoïque et 2%, 1%, 0.5%, 0.25% pour l'huile essentielle). Le même nombre de puceron a été placé dans des boîtes pour faire office de témoins (positif et négatif);

le témoin négatif est pulvérisé juste avec l'eau distillée, et le témoin positif a été pulvérisé avec de l'acétone dilué.

Les observations ont été effectuées quotidiennement pour déterminer l'effet des extraits de naptasurla mortalité des pucerons



Figure 11 : Protocol du test de l'effet insecticide de différentes doses des extraits de napta sur les pucerons verts(Photo originale, 2018)

1-6-1-Le taux de mortalité (%)

Des comptages de mortalité sont effectués quotidiennement pour calculer le taux de mortalité déterminé par la formule suivante :

$$TM\% = \frac{\text{Nombre de larves mortes}}{\text{Nomre de larves dénombrées}}$$

Le test est considéré valide si le taux de mortalité chez les témoins est inférieur à 5% ou compris entre 5% et 20%. Si le pourcentage de mortalité chez les témoins est compris entre 5% et 20%, la mortalité après exposition doit être corrigée par l'utilisation de la formule d'Abbott(Bouras et Benhamza,2013).

$$\text{Mortalité corrigée (MC \%)} = \frac{M2 - M1 * 100}{100 - M1}$$

M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité.

M1 : Pourcentage de mortalité dans le lot témoin.

1-6-2-la détermination de la DL50

L'efficacité d'un toxique est mesurée par sa DL50 qui représente les quantités de substance toxique entraînant la mort de 50% d'individus d'un lot.

La DL50 est calculé à partir de l'équation de la droite de régression des probits des taux de mortalités corrigées en fonction des concentrations du traitement (Wabo-poné,2005).

2-Résultats et discussion

2-1-Résultats et interprétations

2-1-1- Rendement d'extraction

Les rendements des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité des substances végétales extraites sur la quantité de la matière végétale utilisée. L'extrait obtenu après l'extraction de matière végétale de plante étudiée par la méthode de Soxhlet est un extrait méthanoïque de couleur vert foncé. Le rendement obtenu est 2%.

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. *Calaminthanepetaa* fourni un rendement d'environ 0.08%.

2-1-2- Evaluation « in vitro » de l'effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Calamintha nepeta* sur le puceron vert des agrumes

Les résultats du test d'efficacité de l'extrait méthanoïque des feuilles et tiges de *Calaminthanepeta* sur les pucerons verts sont représentés sur la (figure 11) et annexe. Ils montrent des variations de mortalité en fonction du temps et des doses comparativement aux témoins.

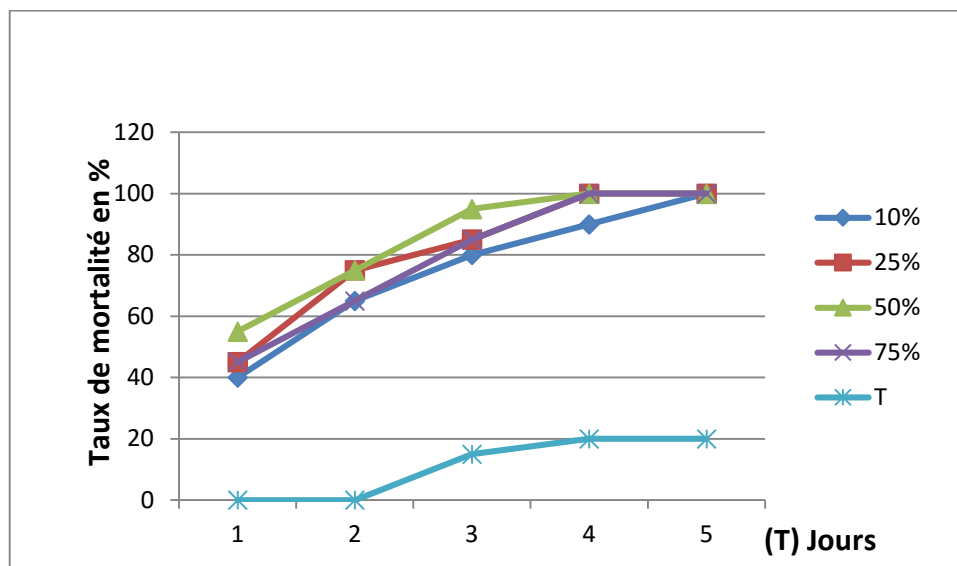


Figure 13: l'évolution du taux de mortalité d'*Aphispiraeocola*, puceron vert des agrumes après traitement par l'extrait méthanoïque des feuilles de *Calamintha nepeta*

Les résultats obtenus, illustre l'effet significatif des doses sur le taux de mortalité de l'insecte en fonction du temps. En effet, la mortalité des pucerons vert traités par des doses

croissantes de l'extrait méthanoïque de *Calamintha nepeta* augmente pour atteindre une mortalité totale pour l'ensemble des lots. Par contre, le taux de mortalité dans le lot témoin (eau distillée) était significativement inférieur.

Les mortalités ont commencé premier jour, au niveau des différents traitements. Un taux de mortalité qui dépasse 50 % est relevé chez les individus traités par la dose (50%), par contre pour les faibles doses de (10%, 25%) nous avons enregistré 50% de mortalité qu'à partir du quatrième jour.

La décimation totale (100% de mortalité) est obtenue chez les individus traités par la dose de 50% au 3^{ème} jours, alors que la dose 10% n'est arrivée à exterminer les populations des pucerons qu'après le 5^{ème} jours.

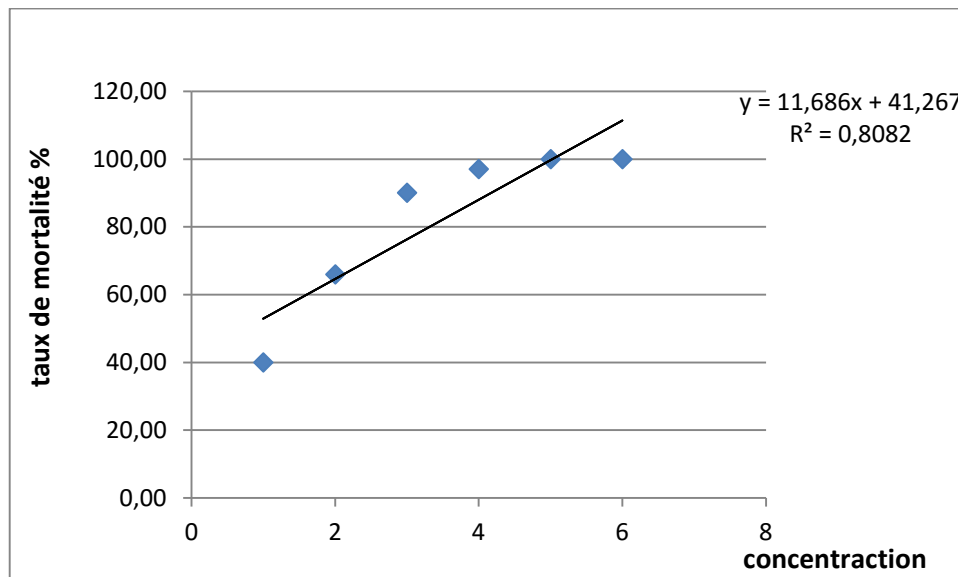


Figure 14: Taux de mortalité d'*Aphispiraeocola*, puceron vert des agrumessous l'effet de l'extrait méthanoïque des feuilles de *Calamintha nepeta* enregistré le 3^{ème} jour.

La figure 12, représente la corrélation positive qui existe entre la concentration de l'extrait méthanoïque et fait ressortir un coefficient de corrélation de 0,808. La DL50 calculée est de 1%.

Les résultats du test de traitement de l'huile essentielle de *Calamintha nepeta* sur les pucerons vert des agrumes sont représentés sur la (figure 13)

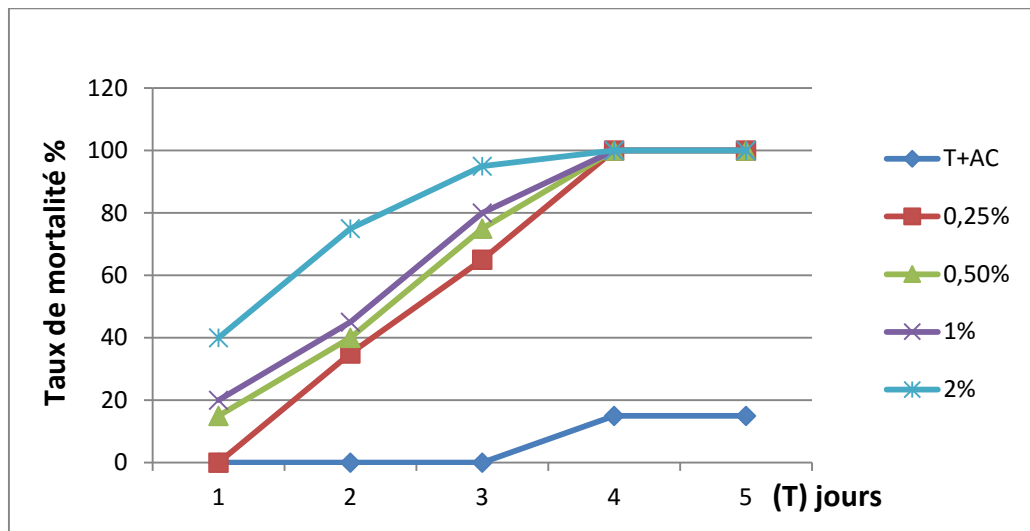


Figure 15 : l'évolution du taux de mortalité de l'huile essentielle des feuilles et des tiges de *Calamintha nepeta* sur le puceron vert des agrumes (*Aphis spiraecola*).

Les doses testées montrent un effet insecticide après 24h de l'exposition, on observe un taux de mortalité de 40% pour la dose 2% et 1%.

En revanche la mortalité des pucerons du lot témoin (positif) a été estimée à 0% après 24h ; tandis qu'à 96h après, des taux de 20% ont été relevés.

Des taux de mortalité 100% ont été enregistrés pour la dose 2% après 96h. Après 5 jours du traitement, l'ensemble des doses utilisées ont réussi à supprimer toute la population aphidienne sauf excepté celle des lots témoins ou la mortalité n'a pas excéder 20% même après 15 jours.

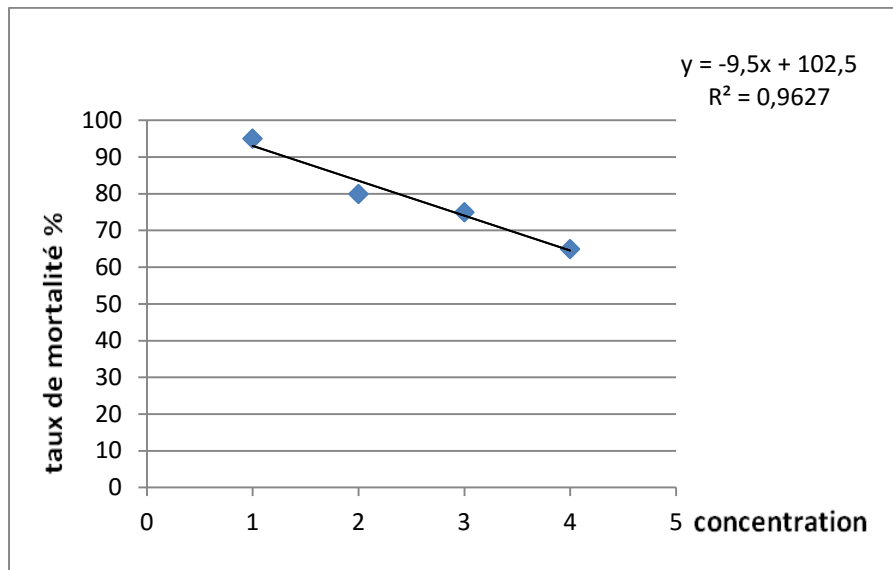


Figure 16: Taux de mortalité de *Aphisspiraecola*, puceron vert des agrumes sous l'effet de huiles essentielles des feuilles de *Calamintha nepeta* enregistré le 3^{ème} jour.

La figure 14, représente la relation proportionnelle qui existe entre les différentes concentrations et la mortalité corrigée causée par huile essentielle. Cette dernière démontre une corrélation positive entre les concentrations de l'huile essentielle avec un coefficient de 0,962, On peut calculer également à partir de cette figure la DL50 qui égale 6%.

2-3-Discussion:

Lors de cette étude, il a été remarqué que les extraits végétaux de *Calamintha nepeta* ont généré une mortalité importante des pucerons verts des agrumes.

Il a été constaté également que les taux de mortalité augmentent proportionnellement en fonction du temps et des doses.

Les résultats obtenus démontrent la forte activité insecticide exercée par l'extrait méthanoïque et l'huile essentielle des feuilles et tiges de *napta*, même avec les plus faibles doses, ce qui laisse supposer que les principes actifs présents chez *Calamintha nepeta* sont toxiques pour ce ravageur.

Cet effet toxique pourraient dépendre de la composition chimique des extraits testés et du niveau de sensibilité des insectes (Ndomo et al., 2009). En effet, *Calamintha nepeta* contient des composés phénoliques, Thuyone, camphre et cinéole, ayant des propriétés insecticides (Aubertot et al., 2005).

Plusieurs études confirment que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant.

Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique Benzzeddine (2010), rapporte quelles huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou, ces derniers sont moins efficaces avec des insectes à carapace dure tels que les coléoptères et hyménoptères adultes.

Les mécanismes d'action des huiles essentielles sont méconnus et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet, Bouras et Benhamza (2013).

Ont notés que certains alcools, phénols, cétones, aldéhydes et terpènes produits en permanence par des plantes aromatiques et qui peuvent être présents dans une même plantes, vont agir sur le comportement d'un grand nombre d'insectes phytophages par des processus de répulsion ou d'anti-appétence. Leurs toxicités s'exercent de façon sélective sur le système nerveux (neurotoxique), le système reproduction (neurotoxique) ou le système digestif des bioagresseurs.

Conclusion

Les pucerons ont leur rôle dans l'environnement. Ils peuvent être nuisibles aux plantes, allier aux fourmis ou servir d'aliments à d'autres insectes. Les insecticides utilisés de façon systématique détruisent aussi bien les pucerons que leurs ennemis naturels. Il est donc nécessaire d'adapter les méthodes de lutte. En raison de l'effet nocif de ces derniers sur l'environnement et sur le développement de populations de pucerons résistants, il est primordial d'adopter des méthodes de lutte alternatives.

L'objectif principal de ce travail consiste à évaluer dans des conditions de laboratoire, l'effet insecticide de l'huile essentielle et de l'extrait méthanoïque d'une plante aromatique et médicinale, la napta (*Calamintha nepeta*) sur la mortalité des pucerons vert des agrumes.

Quatre doses ont été retenues pour chaque extrait 10%, 25%, 50%, 75% pour l'extrait méthanoïque et 2%, 1%, 0.5%, 0.25% pour l'huile essentielle.

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. *Calamintha nepeta* a fourni un rendement d'environ 0.08%. Alors que celui de l'extrait méthanoïque est de 2%.

Les résultats du test d'efficacité de l'extrait méthanoïque et de l'huile essentielle des feuilles et tiges de *Calamintha nepeta* sur les pucerons verts, montrent des variations de mortalité en fonction du temps et des doses comparativement aux témoins. Ces derniers démontrent la forte activité insecticide exercée par l'extrait méthanoïque et l'huile essentielle des feuilles et tiges de napta, même avec les plus faibles doses, ce qui laisse supposer que les principes actifs présents chez *Calamintha nepeta* sont toxiques pour ce ravageur.

Au terme de ce travail nous pouvons conclure que *Calamintha nepeta* représente une source de substances bioactives pouvant être formulés sous forme de bio insecticide. Et de ce fait, elle fait partie des plantes prometteuse qui se prêtent bien à des investigations dans le domaine de la lutte biologique.

En fin, ce travail doit être reconduit dans les mêmes conditions de laboratoire, pour une éventuelle confirmation des résultats, avant d'être expérimenté «In vivo» et en plein champs, pour certifier son efficacité réelle, dans les conditions naturelles. Dans le but d'instaurer un programme de lutte biologique acceptable du point de vue environnemental et efficace pour le contrôle des populations aphidiennes des agrumes.

Références bibliographique

- Benhamou N., Kloepper J.W.,** Quadt-Hallman A. &Tuzun S., 1996. Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. *Plant Physiol.*, 112, 919-929.

- Botineau M .2010.**Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs .Ed TEC&DOC.Lavoisier,Paris.P :2021-1043 .

- **Botanical Gardens**, P/5116522.

- **Bruneton J.** Pharmacognosie. Phytochimie : Plantes médicinales. 3e édition, Paris : Editions TEC & DOC, Cachan : Editions Médicales Internationales. 1999 : p. 239-249, p. 309-327, p. 369-388, p. 1070-1079.

- **Bray L., 2005** .Phylogénie des Angiospermes.P915.

- Buronjo AM., 2008.**Le Grand Guide des huiles essentielles .Ed:HACHETTE Pratique.P:235.

- **Cantino PD.,** Harley RM., Wagstaff SJ.,1992.Genera of Labiatae :Statues and Classification .In R.M. Harley&T.Reynolds (Ed1),Avances in (Labiatae science Kew . Royal

- **Carr G., 2004.**Vascular Plant family.

- Dedryver C.A., 1982.**Qu est ce qu'un puceron ?Jour .info .étude .2-4 mars 1982 , Paris :9-20.

- **Guignard JL.,** 1996.Biochimie Végétale, ED Masson Paris.

- Guignard JL.,** 1998. Abrégé botanique.11^{ème} Edition Masson Paris.

- **Guignard JL., 2001.**Botanique Systématique moléculaire p114 .

- Hautier.,2003** Impact sur l'entomofauneindigène d'une coccinelle exotique utilisée en lutte biologique . Diplôme d'Etudes spécialisées en Gestion de l'environnement ., Université libre de Bruxelles 13:1-99.

- Iserin P., 2001** .Encyclopédie . des plantes médicinales :Identification, préparation, soin.Ed Larousse .P: 267 .

- Korth K.L., 2003.** Profiling the response of plants to herbivorous insects. *GenomeBiol* 4: 221–224;

Références bibliographique

- **Lambert L., 2005** - Les pucerons dans les légumes de serre : Des bêtes de sève. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec.
- **Maison haute JE., 2009**-Quand le paysage influence les ennemis naturels .Bulletin de la société d'entomologie du Québec., Vol.16, N 2 :3-5
- **Quezel P., Santa S., 1963**. Nouvelles flore de l'Algerie et des régions désertiques méridionales. Tome.,Edition du Centre National de la Recherche scientifique .Paris , P: 788-789 .
- **Sekkat. A., 2007** - Les pucerons des agrumes au Maroc : Pour une agrumiculture plus respectueuse de l'environnement. ENA. Maroc.
- **Simonpoli P., 1991**. Arburi . arbe. arbigliule: Savoirs populaires sur les plantes de Corse Ajaccio, Parc naturel régional de la Corse .
- **Speck B ., Ursula ., Fotsch C., 2008**. Connaisance des herbes sarritte RGK Caisse de santé.
- **Turpeau-Ait Ighil. E., Leclant. F., & Rahn. M.J., 2011** – Les pucerons des arbres fruitiers, cycle biologique et activité de vol. Ed. I.N.R.A., Paris.
- **Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biol. Res. 2000, 33: 55-64.
- **Vàrban DI., Duda M. V. àrban R . : Munteau S., 2009.**, Research Concerning the Oranic Technology for Satureja Hortensis L., Culture Bulletin UASVM Agriculture 66, 79-86.-
- **Sekkat. A., 2007** - Les pucerons des agrumes au Maroc : Pour une agrumiculture plus respectueuse de l'environnement. ENA. Maroc.
- **Wang. Y ., Ma. L., Wang. J., Ren. X ., & Zhu. W., 2000** - A study on system optimum control to diseases and insect pests of summer soybean. Acta Ecologica Sinica 20 : 502-509.
- ITAFV, 2013b**. Agrumiculture 2 : Conduite d'un verger d'agrumes. Ed. ITAFV (Algérie), 60 p.
- JACQUEMOND C., AGOSTINI D. et CUR K., 2009** - Des agrumes pour l'Algérie, Bureau d'ingénierie en horticulture et agro-industrie, p 4.
- Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J., Molina – Salinas G. et Said-Fernández S. (2006)**. Pharmacologyonline., 3 : 569-574.
- KELLOUCHE A., 2005**. Etude de la bruche du poi-chiche, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte, Thèse. Doc d'état. Univ. Tizi-Ouzou, Algérie, 154p.
- KIM J., MARSHALL M. R., and VEI C., 1995**. Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. J. of Agricultural and

Références bibliographique

Food Chemistry, 43, pp: 2839-2845.

Laamari M., Jouselin E. & Cœur D'acier A., 2010. Assessment of aphid diversity (Hemiptera: Aphididae) in Algeria : A fourteen-year investigation. *Faunistic Entomology* 62 (2), 73 - 87.

Lacirignola C. & D'Onghia A.M., 2009. The Mediterranean citriculture: Productions and perspectives. *Options Méditerranéennes B* 65, 13 - 17.

Leclant F., 1970 : Eléments pour la prise en considération des aphides dans la lutte intégrée en vergers de chers. *Entomophage*, pp. 15, 53-81.

Leclant F., 1976: Réflexions sur les récentes pullulations de pucerons sur les pie pis de céréales en France. *La défense des végétaux*. 198, 76-83.

Leclant F., 1978: Etude bioécologique des aphides de la région méditerranéenne. Implications agronomiques. Thèse de doctorat, d'état. SoL. UNIV. Des Sol et Tech. Du Languedoc 318p.

Leclant F., 1982: Les effets nuisibles de pucerons sur la culture. *Journ. D'étude et d'inf Les pucerons des cultures*. A.C.T.A. pp 37-56.

Leclant F., 2000: Les pucerons des plantes cultivées. 3-arbres fruitières. INRA, pp 7-13.

Loussert R., 1989. Les Agrumes. Tome 2 : Production. Ed. Technique et Documentation - Lavoisier (Paris), 158 p.

Margaritopoulos J. T., Tsitsipis J. A., Goudoudaki S., et Blackman R. L., 2002. Life cycle variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in Greece. *Bull. Entomol. Res* . 92:309-319.

Mebarki N., 2010. Thèse de magistère. de chimie, Université –M'Hamed Bougara-Boumerdes.

MEJHOLM O., & DALGAARD P., 2002. Antimicrobial effects of essential oils on the seafood spoilage microorganism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products, *Letters in Applied Microbiology*, 34, pp : 27-31.

Miles P. W., 1989: Feeding process of Aphidoidea in relation to effects on their food plants in Aphids, their biology, natural enemies and control. Amsterdam: A. K. Minks and P. Harrewijn, Ed° Elsevier. Vol. 2C, P. 1-22.

Miles P. Z., 1990: The responses of plants to the feeding of Aphidoidea: principles in Aphids, their biology, natural enemies and control. Amsterdam: A. K. Minks and P. Harrewijn, Ed° Elsevier. p. 131-147.

Références bibliographique

- Morales R., 1997.** The history. botany and taxonomy of the genus thymus. In thyme: the genus thymus. medicinal and aromatic plants. industrial profiles. edition thylor and francis. Vol. 17. London.
- Moran N. A., 1992:** The evolution of aphid life cycles. *Annu. Rev. Entomol.* 37:321-48.
- Myazaki M., 1987:** Forms and morphs of aphids in Aphids, their biology, natural enemies and control. Amesterdam: A. K. Minks and P. Harrewijn, Ed° Elsevier. Vol. 2A, P. 27-50.
- Nicolosi E., 2007.** Origin and taxonomy. In: Khan I. A. (ed.), Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology, Ed. CAB International (UK), 19 - 44.
- Padrini F. et Lucheroni M.T., 1996 -** Le grand livre des Huiles Essentielles- guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage. Page 115.. Ed de Vecchi, Paris.
- Parent C., 2005.** Puceron de soya, croissance variable des population. Rev, grandes cultures, n° 19. 4 Aout 2005. MAPAQ 200, chemin Sainte- Foy, 9^{eme} étage Québec, 05p.
- Pefia L. & Navarro L., 1999.** Transgenic citrus. In: Bajaj Y. P. S. (ed.), Transgenic Trees, Ed. Springer (Berlin), 39 - 54.
- Peña L., Cervera M., Fagoaga C., Romero J., Juárez J., Pina J. A. & Navarro L., 2007.** Citrus. In: Pua E. C. & Davey M. R. (eds.), Transgenic Crops V, Ed. Springer (Berlin), 35 - 50.
- PIBIRI M. C., & SEIGNIEZ C., 2001.** Assainissement microbologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles et leurs effets sur le bienetre des occupants, CISBAT, Lausanne, LESO, EPFL.
- Praloran J.-C., 1971.** Les agrumes. Ed. G.-P. Maisonneuve et Larose (Paris), 565 p.
- Quezel, P. et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S.Paris.
- RAI M. K., ACHARYA D. AND WADEGAONKAR P.(2003)-** Plantderivedantimycotics: Potential of Asteraceous plants, in: Plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects. Haworth press, N-York, Londin, Oxford, pp: 165-185.
- RUBERTO G., BIONDI D., CIANA P., and GERACI T., 1993.** Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. Flavour and Fragrance J., 8, pp: 331-337.
- Sarni-Manchado P and Cheynier V.,2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10.
- Sauvion N., 1995.** Effet et modes d'action de deux lectines à mannose sur le puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* (harris). Thèse Doc. I.N.S.A. Lyon. 14p.

Références bibliographique

Singh S. & Rajam M. V., 2009. Citrus biotechnology: Achievements, limitations and future directions. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 15, 3 - 22.

Selmi S. et Sadok S. (2008). *Pan-American Journal of aquatic sciences.*, 3 (1) : 36-45.

Schepers A., 1989. Chemical control in aphids, their biology, natural enemies and control. Amsterdam: A. K. Minks and P. Harrewijn, Ed° Elsevier. Vol. 2C, p. 89-122.

Shaposhnikov G.C., 1987. Evolution of aphids in relation of plants, their biology. Amsterdam: A. K. Minks and P. Harrewijn, Ed° Elsevier. Vol. 2A, P. 409-414.

Strqthdee AT., Bal J. S., Hodkinson I.D., 1993. Identification of three previously unknown morphs of *Acyrtosiphon salbardicum heikintiemmo* on spitsbergen. Vol. 24, n°1,p. 43-47.

Sylvester E.S., 1989: Viruses transmitted by Aphids in Aphides, their biology, natural enemies and control. Amsterdam: A. K. Minks and P. Harrewijn, Ed° Elsevier. Vol. 2Cm p. 65-88.

Tadeo F. R., Cercós M., Colmenero-Flores J. M., Iglesias D. J., Naranjo M. A., Ríos G., Carrera E., Ruiz-Rivero O., Liso I., Morillon R., Ollitrault P. & Talon M., 2008. Molecular physiology of development and quality of citrus, *Advances in Botanical Research* 47, 147 - 223.

Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. (2004). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68 (5): 1113- 1134.

TAPONDJOU L. A., ADLER C., BOUDA H., et FONTEM D. A., 2003. Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab (Coleoptera, Bruchidae). *Cahiers d'études et de recherches francophones, Agricultures*, 12(6), pp : 401-407.

XIA E.Q., DENG G.F., GUO Y. J. et LI H.B., 2011- Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(2) : 622-646.

Xiao Y.-J., Hu M. & Tomlinson B., 2014. Effects of grapefruit juice on cortisol metabolism in healthy male Chinese subjects. *Food and Chemical Toxicology* 74, 85 - 90.