

République Algérienne démocratique et populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUGHANDJA Nor elhouda

BOUTEMRA Nadia

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité PROTECTION DES CULTURES

THÈME

**Etude préliminaire des effets *in vitro* de l'huile
essentielle de *Thymus vulgaris* sur les larves de deux
espèces de ver blanc et l'entomopathogène autochtone
Beauveria sp.**

Soutenue publiquement le **04/07/2018**

DEVANT LE JURY

Présidente	M ^{ME} SAAIH F.	MCB Univ. Mostaganem
Encadreur	M ^{ME} BADAOUI M.I	MCB Univ. Mostaganem
Examinatrice	M ^{ME} BERGHEL S.	MCB Univ. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Protection des Végétaux

Année universitaire : 2017-2018

Remerciements

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Nous remercions notre encadreur Mme BADAOUI M.I de sa grande aide durant la réalisation de notre travail. Les orientations qu'elle nous a apporté et le partage de ses connaissances et ses idées nous a poussé vers le succès.

Nous remercions Mme SAIAH F. qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury, et d'apporter son jugement sur ce travail.

Nous remercions également à Mme BERGHEL S. d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce mémoire.

Sans oublier aussi l'encouragement tout on long de notre éprouvons, comme il a été présent à tout moment qu nous avons besoin de lui : SABIH Hossine.

Nous remercions tous les membres de l'équipe de laboratoire de protection des cultures, de phytopathologie et de biochimie de l'université Abd El HamdIbn Badis, pour leur accueil et leur sympathie.

Nos sincères remerciements s'adressent également à tous les collègues de la promotion *PROTECTION DES CULTURES.*

Dédicaces

Avant tout, je dois rendre grâce à dieu de m'avoir donné le courage de terminer ce travail

Je dédie ce modeste travail:

A celle qui a été toujours la source d'inspiration et de courage ma mère

A celui qui a inséré le gout de la vie et le sens de la responsabilité mon père

A mes chères soeurs "Mokhtaria, Houaria"

A mes frères "Amhamed, Kadda, Mokhtar et Zahar Benisa"

A tout la famille BOUTEMRA

A mes amies proches "Atmania, Amina, Halima, Samira, Sara, Hanadi"

particulièrement Ma copine BOUGHANDJA Nor elhouda.

A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que connue moi.

Dédicace

A DIEU, pour m'avoir donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.

A mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi

A ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon frère islam

A tout la famille Boughendja et Bennar

A tous mes amis proches Naima ; Zahira ; Asmaa ; Kaltouma ; Wafaa ; Abderraouf Khadija et Halima et ma copine Nadia

Sans oublier ma tante Nacira

À tous ceux qui m'aiment.

Résumé

Les vers blancs des cultures causent des dégâts considérables, ce sont des ravageurs polyphages qui s'attaquent pratiquement à plusieurs cultures. Les agriculteurs sont orientés vers la lutte chimique. La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels pour lutter contre ces bio-agresseurs.

L'objectif principal de notre travail est de vérifier l'efficacité de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* *in vitro* sur les larves deux espèces de ver blanc et de tester en même temps l'effet de cette huile sur l'entomopathogène autochtone *Beauveria sp.*.

Les résultats de la première partie montre que l'HE de *T.vulgaris* exerce une action insecticide intéressante vis-à-vis les deux espèces de ver blanc avec une efficacité plus marqué sur les larves de VB1 en éliminant 86.67% des individus.

L'analyse des résultats de l'activité antifongique *in vitro* montre que l'HE de *T. vulgaris*, présente une activité inhibitrice totale (100%) de la croissance mycélienne de *Beauveria sp.* pour toutes les doses testées 0.5%, 0.25%, 0.125% et 0.062%.

Mots clés : *Thymus vulgaris*, huile essentielle (HE), effet larvicide, Ver blanc, activité antifongique, *Beauveria sp.*

Remerciement	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale	

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Vers blancs

I. Introduction.....	2
II. Systématique des vers blancs.....	2
III. Principales espèces	4
III .1 Hanneton européen (<i>Rhizotrogus majalis</i>)	4
III.1.1 Description.....	4
III.1.2 Cycle de vie.....	4
III .2 Hanneton commun (<i>Phyllophaga anxia</i>).....	5
III.2.1 Description.....	5
III .2.2 Cycle de vie.....	6
III .3 Scarabée japonais (<i>Popillia japonica.</i>)	6
III.3.1 Description.....	6
III.3.2 Cycle de vie.....	7
VI. Lutte contre les vers blancs.....	8
VI.1 La lutte mécanique.....	8
VI.2 La lutte chimique.....	8
VI.3 La lutte biologique.....	8
VI.4 La lutte intégrée.....	9

Chapitre II : Effet des substances défensives des plantes

I. Introduction	10
II. substances défensives des plante.....	10
III. Cibles des toxines naturelles des plantes chez les insectes.....	11
III. 1 Système nerveux	11
III. 1. 1 Alcaloïdes	11
III. 1. 2 Pyréthriinoïde.....	11
III.1.3 Huiles essentielles.....	11
III.2 Systèmes hormonaux	12
III.2.1 L'hormone juvénile.....	12
III.2.2 L'ecdysone	12
IV. Les huiles essentielles.....	12
IV. 1 Définition	12
IV. 2 Localisation des huiles essentielles.....	12
IV. 3 Activités biologiques.....	13

IV.4 Propriétés physico-chimiques des HE.....	13
IV.5 Classification des huiles essentielles.....	14
A. Les terpénoïdes.....	14
B. Les composés aromatiques.....	14

Chapitre III : Thymus vulgaris

I. Généralités	15
II. Origine et distribution.....	15
III. Description.....	15
V I. Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	16
V. Propriété du thym.....	17
IV. Composition Chimique <i>Thymus vulgaris</i>	17

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthode

I. Etude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	18
I.1 Matériel biologique.....	18
I.1.1 Matériel végétal.....	18
I.1.2 Matériel animal.....	18
I.2 Extraction des huiles essentielles.....	19
II.2.1 Matériel d'extraction (extracteur d'huile essentielle)	19
II.2.2 Méthode d'extraction.....	20
II.2.3 Détermination du rendement	20
II.2.4 Tests de l'activité larvicide.....	21
II. Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> vis-à-vis le champignon entomopathogène <i>Beauveria sp</i>	24
II.1 Matériel fongique.....	24
II.1.1 Préparation de solution sporale.....	24
II.2 Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentrations de l'huile essentielle	25
II.3 Essai de l'activité antifongique.....	25
A. Première technique (Technique de repiquage).....	25
B. Deuxième technique (Technique d'étalement).....	26
II.4 Evaluation de la croissance mycélienne.....	26
II.4.1 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TI%).....	28
II.4.2 Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI).....	28
II.4.3 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM).....	29

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> sur les larves du ver blanc.....	30
---	----

I.1 Détermination du rendement.....	30
I.2 Sensibilité des larves des vers blancs aux huiles essentielles.....	30
I.3 Evaluation de l'efficacité de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	31
I.3.1 Effet larvicide de l'HE sur l'espèce VB1.....	31
I.3.2 Effet larvicide de l'HE sur l'espèce VB2.....	32
II. Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> vis-à-vis le champignon entomopathogène <i>Beauveria sp.</i>	35
II.1 Effet de l'HE de sur la croissance mycélienne, le taux d'inhibition et la vitesse de Croissance.....	36
II.1.1 Evaluation de croissance mycélienne.....	36
II.1.2 Evaluation du taux d'inhibition (TI%).....	36
II.1.3 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM).....	37
Conclusion	40
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures

Figure 01 : Phylogénie et distribution des Rhizotrogini.....	03
Figure 02 : Hannetons européen (<i>Rhizotrogus majalis</i>)... ..	04
Figure 03 : Cycle de vie de <i>Rhizotrogus majalis</i>	05
Figure 04 : Hanneton commun (<i>Phyllophaga anxia</i>),	05
Figure 05 : Cycle de vie du <i>Phyllophaga anxia</i>	06
Figure 06 : Scarabées japonais (<i>Popillia japonica</i>)	07
Figure 07 : Cycle de vie de <i>Popillia japonica</i>	07
Figure 08 : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i>	16
Figure 09 : <i>Thymus vulgaris</i>	17
Figure 10 : Dissemblance morphologique des larves de ver blanc récoltées	18
Figure 11 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.	19
Figure 12 : Démarches d'extraction d'HE par entraînement à la vapeur d'eau.....	20
Figure 13 : Larves de deux espèces de ver blanc	21
Figure 14 : Préparation des différentes concentrations	21
Figure 15 : Dispositif expérimental du test de toxicité.....	22
Figure 16 : Etapes du test biologique in vitro.....	22
Figure 17 : Champignon entomopathogène autochtone <i>Beauveria sp.</i>	24
Figure 18 : Dispositif expérimental de la technique de repiquage utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de <i>T. vulgaris</i>	25
Figure 19 : Dispositif expérimental de la technique d'étalement utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de <i>T. vulgaris</i>	26
Figure 20 : Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	27
Figure 21 : Huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i>	30
Figure 22 : Larves mortes après traitement par l'HE de <i>Thymus vulgaris</i>	30
Figure 23 : Effet de différentes concentrations de l'HE de <i>T. vulgaris</i> sur la mortalité des larves de VB1.....	31
Figure 24 : Mortalité corrigée des larves du ver blanc VB1 traitées par l'HE de <i>T. vulgaris</i>	32
Figure 25 : Effet de différentes concentrations de l'HE de <i>T. vulgaris</i> sur la mortalité des larves de VB2.....	33

Figure26 : Mortalité corrigée des larves du ver blanc VB2 traitées par l'HE de <i>T.vulgaris</i>34
Figure 27 : Aspect macroscopique des colonies de <i>Beauveria sp.</i> dans les lots témoins obtenus par la technique de repiquage.....	.35
Figure28 : Aspect macroscopique des colonies de <i>Beauveria sp.</i> dans les lots témoins obtenus par la technique d'étalement.....	.35
Figure29 : Effet de l'HE de <i>T. vulgaris</i> sur la croissance mycélienne de <i>Beauveria sp</i>	36
Figure 30: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Beauveria sp</i> sous l'effet de l'HE de <i>T. vulgaris</i>	37
Figure 31 : Vitesse de la croissance mycélienne de <i>Beauveria sp.</i> sous l'effet de l'HE de <i>T. vulgaris</i>	38

Liste des abréviations

µl : microlitre

CMI : concentrations minimale inhibitrices

d : diamètre de l'explant

D : diamètre de la colonie

DL50 : Dose létale médiane

gr : gramme

L : croissance mycélienne

MC : Mortalité corrigé

ml : millilitre Mm : millimètre

mm : millimètre

PDA : Potato Dextrose Agar

h : heure

HE : huile essentielle

R : rendement en huile essentielle

Sotravit : Société de Transformation des Produits Viticoles

T1 : témoin négatif

T2 : témoin positif

Te: temps d'incubation

TI : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

VB : vers blanc

VCM : Détermination de la vitesse de croissance mycélienne

Introduction générale

Les dégâts provoqués en agriculture par les vers blancs sont importants dans le monde. Les dommages se caractérisent dans les cas les plus graves par une destruction complète du système racinaire en laissant la terre à nu (Balachowsky , 1962).

En Algérie, les Melolonthini et plus particulièrement *Geotrogus deserticola* (Blanch.) commet de gros dégâts sur les racines des végétaux les plus variées et notamment sur les céréales (Mesbah et Boufersaoui, 2002). Les zones les plus touchées sont les wilaya de Tlemcen, Sidi Bel Abbès, Ain Timouchant , Mostaganem, Tissemsilt , Chlef , Constantine, Médéa, et Oran (Anonyme, 2006).

La polyphagie de cette espèce, sa large répartition dans l'espace et sur des hôtes variés rendent difficile la mise au point d'une lutte chimique efficace. Parallèlement il est admis maintenant que l'utilisation des pesticides a conduit progressivement à des problèmes d'ordres génétiques, environnementaux et sanitaires, ce qui nécessite la recherche de nouveaux moyens de bio-control.

Parmi les interventions en faveur d'une lutte biologique, il y a l'emploi des champignons entomopathogènes et des substances d'origines naturelles et plus particulièrement les huiles essentielles qui sont des mélanges de différents composés aromatiques volatiles, extraits à partir des plantes. Ces agents de lutte biologique représentent actuellement des solutions alternatives de lutte pour la protection des cultures contre les bio-agresseurs, (Aiboud, 2012).

La lutte intégrée est une stratégie multidisciplinaire de contrôle des bio-agresseurs qui associe différentes formes de lutte. L'objectif principal de cette étude ; est de vérifier la possibilité d'utiliser l'huile essentielle d'une plante aromatique *Thymus vulgaris* réputées pour son potentiel biopesticide en combinaison avec l'entomopathogène autochtone *Beauveria sp.* pour contrôler les populations larvaires du ver blanc. C'est dans cette perspective, que notre travail s'insère en se focalisant sur :

1. L'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *T. vulgaris* sur les larves du ver blanc afin d'envisager son utilisation comme moyen de lutte alternatif préservant l'environnement.
2. L'étude de l'activité antifongique de cette huile sur l'entomopathogène *Beauveria sp.*

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Vers blancs

I. Introduction

Les hannetons sont des coléoptères d'assez grande taille, dont les larves sous terraines appelées vers blancs sont des ravageurs des cultures depuis des temps immémoriaux (Nageleisen et Meyer, 2015). Ils forment un groupe important d'insectes se nourrissant de plantes, dont plusieurs peuvent causer des dégâts considérables sur le plan économique. Ces insectes font partie de la grande famille de Scarabaeidae, dont plus de 30 000 espèces ont été dénombré à travers le monde (Belbel et Smaili, 2015).

Les pullulations incontrôlables des vers blancs et la non-maitrise des facteurs de leur dynamique de population font d'eux des ravageurs fortement nuisibles aux cultures (Yahiaoui et Bekri, 2014).

II. Systémique des vers blancs

Les vers blancs appartiennent à l'ordre des coléoptères. Leur classification a été proposée par Peverimhoff (1933, 1938) et suivi par Sainte Claire et Mequignon (Balachowsky, 1962). La super famille des Scarabaeoidea appartient au sous-ordre de polyphaga et comprend une grande famille les Scarabaeidae. Ces insectes constituent une classe parmi laquelle beaucoup d'espèces phytophages nuisent aux feuilles ou aux fleurs de plusieurs productions végétales. Beaucoup de ces espèces nuisibles appartenant à la sous-famille des Melolonthinae et sont représentées par les genres *Polyphylla*, *Anoxia*, *Melolontha* d'une part, et d'autre part, de divers genres très voisins les uns des autres groupés sous le terme de *Rhizotrogini* (figure 01). Cette tribu comprend de nombreux genres principalement répandus en Asie et en Afrique du Nord. En Eurasie vivent surtout des *Amphimallon* et des *Rhizotrogus*, tandis qu'en Afrique du Nord, les vers blancs appartiennent essentiellement aux genres: *Pseudoapterogyna* et *Géotrogus* dont les adultes sont plus ou moins aptères (Montreuil, 2008).

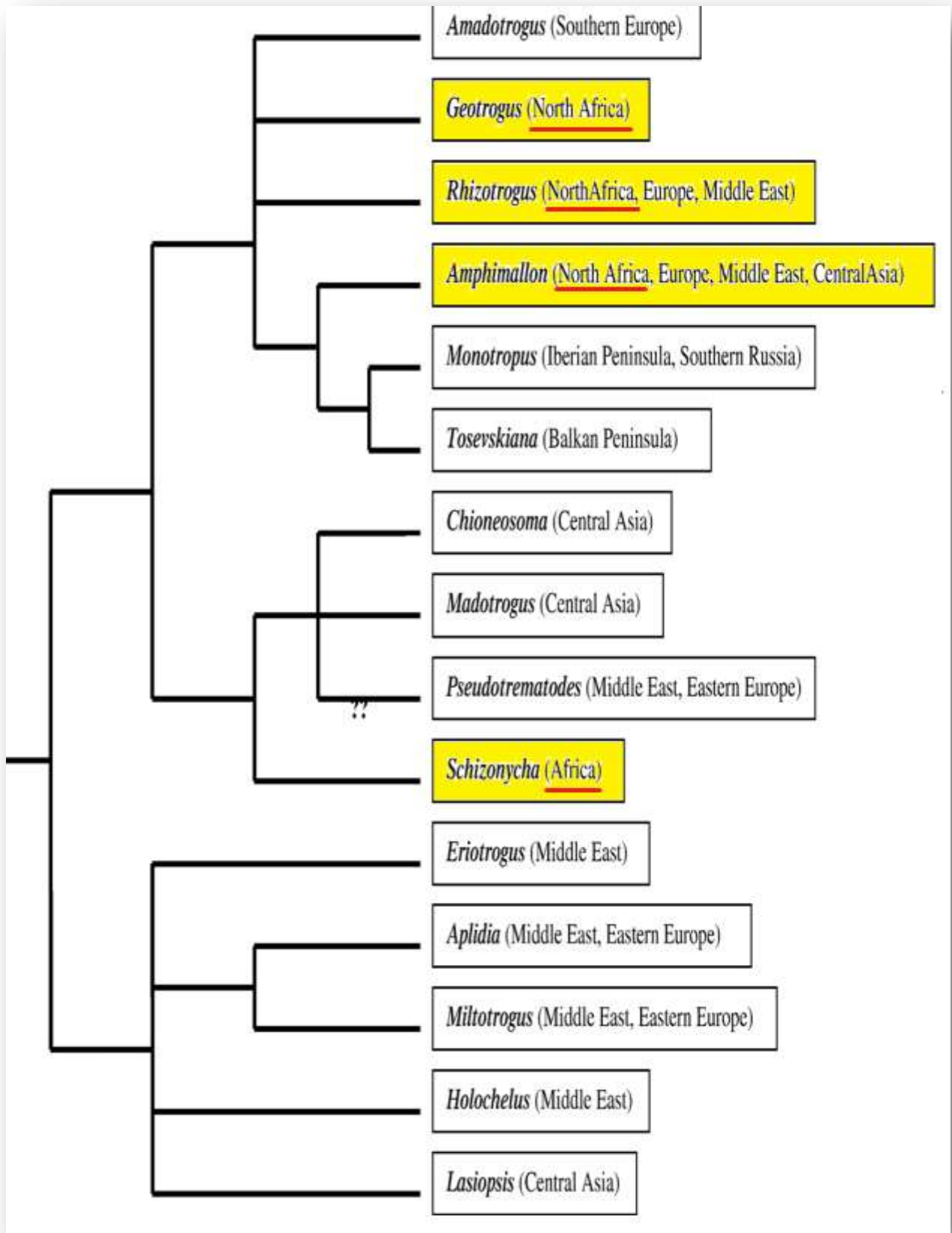


Figure 01: Phylogénie et distribution des Rhizotrogini (Montreuil, 2003 in Bousnane et Ghani 2017)

III. Principales espèces

Les hannetons sont des insectes à métamorphose holométabole (métamorphose complète), Ils passent par quatre états biologiques distincts: œuf, larve, nymphe et adulte.

III.1 Hanneton européen (*Rhizotrogus majalis*)

III.1.1 Description

Les larves du hanneton européen dont le nom scientifique est *Rhizotrogus majalis* (figure 02), se distinguent des autres par le motif en « Y » que forment les soies de l'écusson anal. L'adulte est un hanneton de taille moyenne, d'environ 14 mm, brun clair et de forme ovale (khodja et Boukouche, 2016).

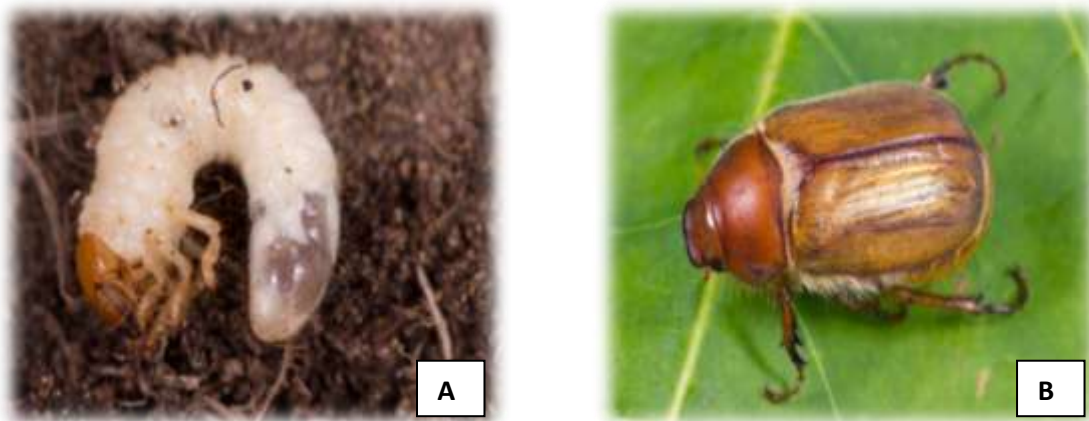


Figure 02 : Hannetons européen (*Rhizotrogus majalis*), **A:** Larve et **B:** adulte
(Légaré et *al.*, 2015)

III.1.2 Cycle de vie

Le hanneton européen a un cycle d'un an (figure 03). Au début de juin, l'adulte émerge du sol pour s'accoupler à la nuit tombante dans les arbres ou sur d'autres supports élevés. Environ deux semaines plus tard, la femelle retourne au sol pour pondre ses œufs vers la fin de Juin et début Juillet. Chaque femelle peut pondre entre 20 et 30 œufs, qui mettent de 2 à 3 semaines pour éclore. Les larves muent deux fois pour atteindre une taille d'environ 2 cm de long vers la fin de l'été. Les larves s'enfouissent dans le sol pour passer l'hiver puis elles remontent très tôt vers la surface au printemps pour s'alimenter de nouveau. À la fin de Mai ou au début de Juin, elles redescendent profondément dans le sol pour se transformer en pupes, puis en adulte (Smeesters, 2013)

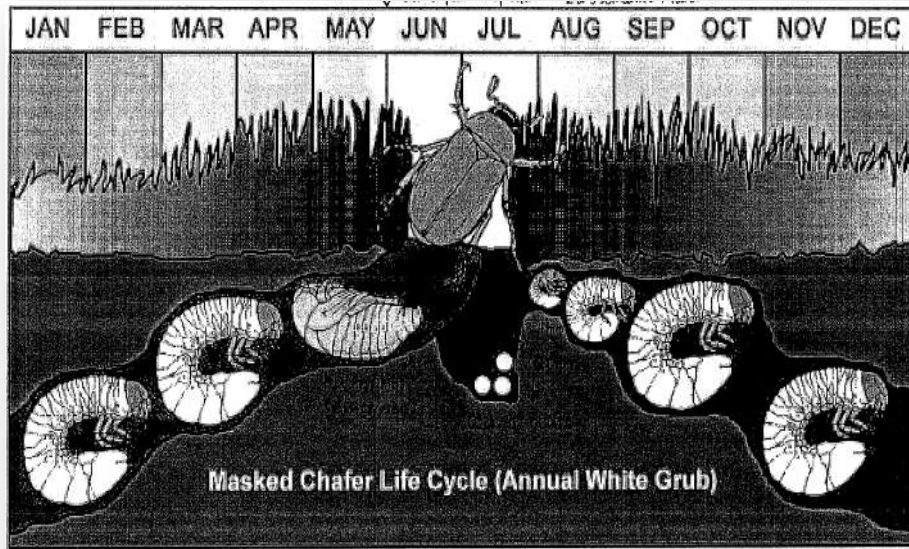


Figure 03 : Cycle de vie de *Rhizotrogus majalis* (Belbel et Smaili, 2015).

III.2 Hanneton commun (*Phyllophaga anxia*)

III.2.1 Description

Coléoptère trapu mesurant jusqu'à 2 cm et de couleur brun foncé ou noire, contrairement au hanneton européen qui est plus pâle et plus petit. Le hanneton commun possède également une pince bien visible au bout des premières pattes, alors que le hanneton européen n'en a pas. Comme tous les hannetons, il possède des antennes courtes se terminant par une massue formée de lamelles et ses larves ressemblent à de grosses crevettes blanches en forme de C (figure 04) (Smeesters, 2013)

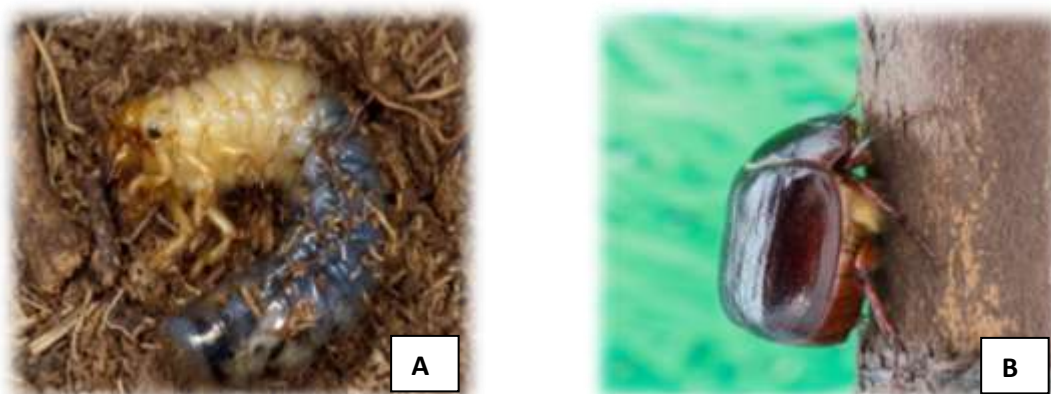


Figure 04 : Hanneton commun (*Phyllophaga anxia*), **A :** Larve et **B :** adulte (Légaré et al., 2015)

III .2.2 Cycle de vie

Phyllophaga anxia a un cycle de trois ans (figure 05). La femelle dépose ses œufs dans une boule de terre dans le sol, les œufs éclosent deux à trois semaines plus tard, les jeunes larves se nourrissent alors de végétation en décomposition pendant le premier été, hibernent dans le sol, ensuite se nourrissent de racines de plantes le second été. Après un autre hiver, les larves se nourrissent jusqu'au mois de Juin du troisième été, finissent par se transformer en pupes après deux à trois semaines, ensuite la forme adulte apparaît, mais demeure dans le sol jusqu'au printemps de la quatrième année (Smeesters, 2013).



Figure 05 : Cycle de vie du *Phyllophaga anxia* (Belbel et Smaili, 2015).

III .3 Scarabée japonais (*Popillia japonica*)

III .3.1 Description

Les larves de *Popillia japonica* comportent trois stades larvaires déterminés à l'aide de la mesure de leur capsule céphalique. On peut les différencier des autres espèces de vers blancs par la présence d'un V formé par les poils sur le dernier segment abdominal de la larve ainsi que par l'ouverture transversale de l'anus.

Les adultes sont verts métalliques et bruns cuivrés (figure 06). Une rangée de poils blancs disposés en forme de 5 petits pinceaux est présente de chaque côté de l'abdomen. Leur taille moyenne est de 10 mm de longueur et 7 mm de largeur (Vittum et al., 1999).

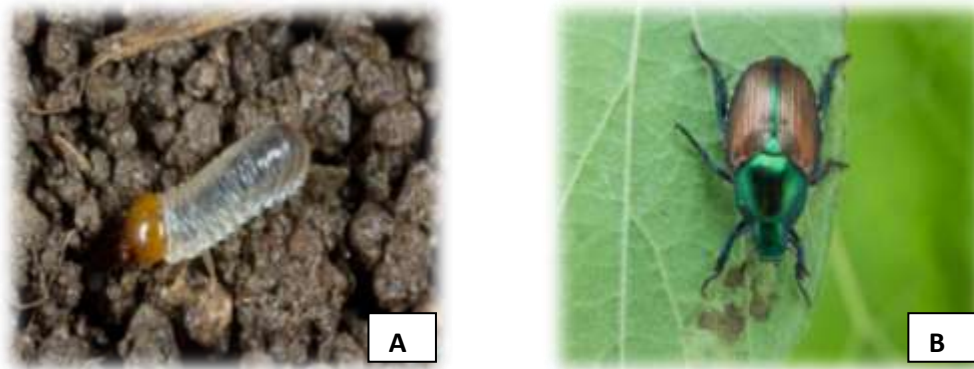


Figure 06 : Scarabées japonais (*Popillia japonica*) **A** : Larve et **B** : adulte
(Légaré et *al.*, 2015)

III.3.2 Cycle de vie

Le scarabée japonais n'a qu'une seule génération par année (figure 07) .L'insecte hiverne sous forme de larve de troisième stade larvaire enfouie dans le sol. Le printemps suivant, une fois que la température du sol dépasse 15 °C, les larves se rapprochent de la surface et se nourrissent de racines de plantes jusqu'à la fin juin, moment où elles se transforment en pupes et deviennent adultes. L'adulte s'extirpe du sol au début juillet et vit une quarantaine de jours. Après l'accouplement, les femelles pondent leurs œufs dans le sol. Ceux-ci éclosent quelques semaines plus tard. Les larves commencent alors à se nourrir de racines et passent par trois stades larvaires avant de se préparer à hiverner (Khodja et Bekkouche, 2016).



Figure 07 : Cycle de vie de *Popillia japonica* (Libeo, 2014)

IV. Lutte contre les vers blancs

IV.3 Lutte mécanique

Les larves sont très sensibles aux chocs, ainsi qu'à la déshydratation. Durant l'été les vers blancs se tiennent dans la couche superficielle du sol où ils dévorent les racines. C'est à ce moment-là, que la lutte mécanique semble le plus efficace puisque le labour remonte en surface les larves, ce qui les expose au soleil et aux oiseaux. Cette méthode est cependant difficile à appliquer en forêt en raison de la présence de nombreuses souches et racines. De plus une fois la plantation réalisée, l'intervention sera limitée aux interlignes (Abgrall, 1991).

IV.4 Lutte chimique

A. Traitement intégral en période automnale : Consiste à un procéder de l'épandage du produit insecticide qui sera suivi d'un cover cropage afin d'enfouir le produit. Il existe encore une autre méthode de lutte qui consiste en l'enrobage de la semence de céréales par un insecticide approprié. C'est une opération qui permet d'éloigner les vers blancs du système racinaire après levée de la céréale.

B. Traitement par bandes en période printanière : Le traitement est localisé au niveau des parcelles de céréales (pourtour des taches). Cette méthode est à appliquer pour les parcelles infestées de 5 à 9 larves /m². La quantité de produit utiliser est la moitié de celle recommandée pour le traitement intégral. Il est recommandé d'effectuer ce traitement de préférence 10 à 15 jour avant les semis.

Il faut maintenir les traitement engagés durant une période d'au moins deux années successives pour parvenir à rompre le cycle biologique de l'insecte en question et de juguler le niveau de population.

IV.5 Lutte biologique

Les hannetons sont sensibles aux maladies fongiques. Parmi les principaux champignons responsables d'infections, il est relevé des *Beauveria*, en particulier *B. bassiana*. Il contamine les hannetons selon le mode d'action classique des champignons entomopathogènes : après avoir perforé la cuticule de la larve, le mycélium pénètre et colonise l'intérieur de l'insecte, puis il synthétise des protéines qui entraînent la mort de la larve. Il existe des spécialités commerciales à base de nématodes entomopathogènes : *Heterorhabditis bacteriophora*. Cet auxiliaire parasite et tue les larves de hanneton et d'*Otiiorhynque* (charançon). Mais les conditions d'applications sont très restrictives, le sol doit

être humide durant les 5 semaines qui suivent le traitement et la température du sol doit être supérieure à 12 °C (Anonyme, 2013).

IV.6 Lutte intégrée

La lutte intégrée est un processus qui s'applique à la planification et à la gestion des terrains pour prévenir les problèmes de ravageurs. Il favorise la prise de décisions relativement au moment et à la nature des interventions en cas de problèmes. Un des principes clés de la lutte intégrée est de ne prendre des mesures contre les organismes nuisibles que lorsque leur nombre l'exige, et non de façon systématique. Dans la plupart des cas, il suffit simplement de restreindre les populations de ravageurs à un niveau où ils ne causent plus de dégâts, sans les éliminer complètement. Dans le cadre d'un programme de lutte intégrée, les responsables de la lutte antiparasitaire ont recours au dépistage pour recueillir les renseignements nécessaires afin de décider quelles mesures il faut prendre. Si le traitement s'avère nécessaire, ils ont recours à la combinaison de mesures la plus efficace pour l'emplacement. Vous pouvez aussi avoir recours à cette approche pour combattre les organismes nuisibles, y compris les vers blancs (anonyme, 2000).

Chapitre II

Effets des substances défensives des plantes

I. Introduction

Les plantes ne peuvent fuir devant un prédateur mais elles possèdent d'autres moyens de défense, les épines, crochets et poils urticants sont des organes de défense mécanique, surtout utiles contre certains grands animaux, mais le vrai secret de l'autoprotection des plantes réside dans la subtile chimie de leurs toxines, si une plante n'est pas attaquée par un insecte, c'est en effet qu'elle s'en défend chimiquement (Bernard et *al.*, 2009).

L'emploi des extraits de plantes comporte des avantages certains. En effet les plantes constituent une source de substances naturelles qui présente un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (Bonzi, 2007).

Les produits biodégradables provenant de plantes constituent une bonne alternative qui permet aux producteurs de pouvoir assurer la protection de leurs cultures à un coût relativement faible. La réduction de l'emploi des pesticides chimiques due à l'utilisation des extraits de plantes contribue énormément à la réduction de la pollution de l'environnement et cela permet également d'améliorer la santé publique des populations (Weaver et *al.*, 2000).

II. Substances défensives des plantes

Les plantes synthétisent de nombreux métabolites secondaires dotés de propriétés insectifuges (basilic, carotte, citronnelle, écorce de citrus, eucalyptus, oignon, tagète et même les feuilles de tomate). Fongicides (ail, amarante, manioc amer, oignon, papayer, piment rouge, ricin), nématocides (crotalaire, lilas de Perse, ricin, tagète). Leur efficacité dépend de l'organe de la plante utilisé (graines, écorce, feuilles, tiges, bulbes) et du moment de prélèvement de celui-ci (PIP, 2011).

Les substances actives contenues dans ces plantes agissent de différentes manières sur les maladies et les insectes, pour les maladies, elles inhibent le développement des champignons et efforcent les défenses immunitaires des plantes contre la plupart des parasites (mildiou, oïdium).

La littérature mentionne plusieurs exemples de plantes dont les genres *Verafrum*, *Derris*, *Chrysanthemum* ayant des propriétés insecticides et qui ont orienté la mise au point de produits commerciaux modernes très actifs. C'est ainsi qu'avec plus de 400.000 substances chimiques (terpènes, alcaloïdes, phénols, tannins) la règne végétal constitue la plus grande source de produits insecticides naturels du monde (Israicnra, 1997).

Les plantes ayant des propriétés insecticides ont un :

- a) Effet répulsif : les insectes sont repoussés par le goût ou l'odeur de ces substances.
- b) Effet insecticide : par ingestion des feuilles traitées, certains insectes meurent.
- c) Effet sur le comportement sexuel : après traitement avec certaines plantes alternatives, on constate un changement de comportement ou de diminution de la capacité de reproduction pouvant aller jusqu'à la stérilité complète de l'insecte.
- d) Effet physique : une toxicité de contact qui provient de la formation d'un film imperméable sous forme de cuticule isolant l'insecte de l'air et provoquant son asphyxie.
- e) Effet sur le système nerveux : Parmi les molécules qui agissent sur le système nerveux des insectes, les plus connues appartiennent généralement au groupe des alcaloïdes, des pyréthrinoïdes et des huiles essentielles (Abbad et Abbad, 2015).

III. Cibles des toxines naturelles des plantes chez les insectes

III.1 Système nerveux

III.1.1 Alcaloïdes

Le premier alcaloïde d'origine végétale qui a été décrit est la nicotine, sa principale source est *Nicotiana Rustica* L, sa principale cible est le récepteur à l'acétylcholine (Benner, 1993).

III.1.2 Pyréthrinoïdes

La pyréthrine I est la première pyréthrine naturelle isolée à partir des fleurs séchées de *Chysanthemum cinerarefolium* Visian, l'action des pyréthrinoïdes s'applique sur la fermeture des canaux sodium qui s'ouvrent durant l'activité nerveuse normale, il en résulte une pénétration des ions sodium dans le neurone, induisant des bouffées répétitives de potentiels d'action (Henn et Weinzierl, 1989). La mort des insectes survient rapidement, suite au blocage du système nerveux.

III.1.3 Huiles essentielles

Des travaux récents montrent que les monoterpènes inhibent le cholinestérase (Keane et Ryan, 1999). En générale, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effets aigus interférant avec les transmetteurs actopaminergique des arthropodes (Fanny, 2008).

III.2 Systèmes hormonaux

Les molécules intervenant sur les systèmes hormonaux ont pour cible l'hormone juvénile ou l'ecdysone.

III.2.1 L'hormone juvénile

Le précosène, isolé en 1976 de *Agrotis pernyi*, est la première molécule dont les effets sur l'hormone juvénile ont été rapportés, il inhibe la sécrétion de l'hormone juvénile et entraîne une métamorphose précoce chez les insectes. Cet effet résulte de la destruction des corporalités, conduisant à une atrophie des glandes sécrétrices des insectes qui finissent par mourir.

III.2.2 L'ecdysone

L'azadirachtine est la première molécule d'origine végétale décrite dont les cibles primaires sont leurs sites répondant à l'ecdysone. Les effets de l'azadirachtine se traduisent d'une part par un arrêt du développement larvaire et un blocage des mues, et d'autre part par une inhibition de l'alimentation.

IV. Les huiles essentielles

IV.1 Définition

Les huiles essentielles (HE) sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (Bessedik et Khenfer, 2015).

IV.2 Localisation des huiles essentielles

Les HE sont largement réparties dans le règne végétal. Certaines familles sont particulièrement riches comme les Conifères, les Myrtacées et les Ombellifères. Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, rhizomes, fruit, bois, ...etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HE peut alors varier d'un organe à l'autre (Rhayou, 2002).

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal (Bruneton, 1987 in Benazzeddine, 2010). Il existe en fait quatre structures sécrétrices :

- Les cellules sécrétrices chez les Lauracées, Zingibéracées elles sont soit superficielles, appartenant à l'épiderme comme les glandes sécrétrices de l'épicarpe de fruit de clémentine; soit sous cutanées, comprises dans des assises définies comme les bandelettes sécrétrices situés dans le mésocarpe de fruits de céleri, canaux sécréteurs localisés dans les graines de Carvi (Abi-ayad et *al.*, 2012).
- Les poils glandulaires épidermiques chez les Lamiacées, Géraniacées.
- Les poches sphériques schizogènes chez les Astéracées, Rosacées, Rutacées Myrtacées.
- Les canaux glandulaires lysigènes : On les retrouve chez les Conifères, Ombellifères (Bousnane et Ghani, 2017)

IV.3 Activités biologiques

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques tel que l'interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs (Ormeno, 2007; Fouché et *al.*, 2008).

Les huiles essentielles ont un grand pouvoir antifongique aérien et cutané. Les modes d'actions antifongiques sont assez semblables à ceux décrits pour les bactéries (Dongmo et *al.*, 2002).

La plupart des composés terpéniques sont de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont ici les composés les plus actifs. Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre une large gamme de champignons: *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* et bien d'autres (Kalemba et Kunicka, 2003).

La mise en évidence de leurs activités biologiques a fait l'objet de nombreuses études (Bakkali et *al.*, 2008). Pattnaik et *al.* (1997) ont testés cinq constituants aromatiques des huiles essentielles (le cinéole, le citral, le géraniol, le linalol et le menthol) pour leur activité antimicrobienne et antifongique. En terme d'activité antibactérienne le linalol a été le plus efficace. Pour l'activité antifongique, le citral et le géraniol ont inhibé la majorité des champignons testés (Khaldi, 2017).

IV.4 Propriétés physico-chimiques des HE

On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de saffras. Elles sont peu solubles dans l'eau,

solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Rhayour, 2002).

IV.6 Classification des huiles essentielles

D'après Ait Hellal et Hadrbache (2011), les huiles essentielles sont des mélange complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatique.

A. Les terpénoïdes

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes (qui sont des hydrocarbonés naturels de structure soit cyclique soit à chaîne ouvert) avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc...).

B. Les composés aromatiques

Les dérivées du Phénylpropane sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des Allylphénols, Propénylphénols, Anéthol, Aisaldéhyde, Apiol (Estragol), Eugénol, Safrole, Asarones, Cinnamaldéhyde, Cinnamyl alcohol.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'authranilate de méthyle.

Chapitre III

Thymus vulgaris

I. Généralités

Le nom "*Thymus*" dérive du mot grec « thymos » qui signifie "parfumer" à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* L. est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001).

Il existe une variation de la production des composés secondaires chez certaines espèces végétales que l'on appelle polymorphisme chimique. Cette variation peut être quantitative ou qualitative. Un grand nombre d'espèces possèdent des individus dont les composés secondaires varient quantitativement d'un individu à un autre. Par contre, les exemples de variation qualitative, c'est-à-dire l'existence de chémotypes au sens strict dont les individus peuvent porter des molécules de nature chimique différentes les uns des autres, sont moins fréquents. C'est notamment le cas de *Thymus vulgaris* qui exprime six formes de chémotypes différents, chaque chémotype est nommé suivant le composant principal de son huile essentielle (exemples : thymol (T), carvacrol (C),...) (Amiot, 2005).

II. Origine et distribution

Thymus vulgaris est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (Ozcan et Chalchat, 2004 ; Amiot, 2005). Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (Kitajima, Ishikawa et al., 2004). *T. vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (Kaloustian El-Moselhy et al., 2003).

Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Abdalli et Malek, 2017).

III. Description

Sous-arbrisseau touffu et dressé, pouvant atteindre 40 cm de hauteur, à tiges fortement ramifiées, ligneuses et tortueuses à la base. Les rameaux blanchâtres car courtement velus, portent des feuilles persistantes, de petite taille (3 à 12 mm de long sur 0.5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaires, à limbe entier ; elles sont subsessiles et de couleur vert grisâtre ; beaucoup sont le point de départ de ramuscules très courts, formant des faisceaux de petites feuilles issus de celles de tiges, leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs, alors que leur face supérieure est glabre et marquée par une nervure centrale

déprimée; les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventral ,ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille.

Les fleurs, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle des feuilles plus grandes que les autres ,sont rassemblées en glomérules ovoïdes ;elles sont de petite taille et zygomorphes; le calice est velu, hérissé de poils durs, en forme de tube ventru à la base et de 3à 4 mm de long; il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée (Eberhard et *al.*, 2005).



Figure 08 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris*. (Iserin, 2001 in Ghania, 2010)

IV. Classification botanique de *Thymus vulgaris*

D'après Morales (2002) *Thymus vulgaris* est classé comme suit :

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris L.</i>

V. Propriétés du thym

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides (Bzaylko et Stzeleka, 2007)
- Propriétés antivirales, antifongique, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des partie aériennes de *Thymus vulgais* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (Jiminer-Arellanes et al., 2006)
- Propriétés anthelminthiques (Al-Bayai, 2008)
- Propriétés antioxydants (Takeuchi et al., 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008) en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thynnus* durant leur stockage (Zeghad, 2012).

I.5. Composition Chimique de *Thymus vulgaris*

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intraspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimique (Balladin et Headley, 1999 ; Amiot, 2005). La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton, 1999) ; l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondant sont respectivement : thymol (44,4 - 58,1 %), *p*-cymene (9,1 - 18,5 %), terpinène (6,9 - 18,0 %), carvacrol (2,4 - 4,2 %), linalol (4,0 - 6,2 %). La caractéristique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa teneur élevée du thymol (Guillén et Manzanos, 1998 ; Balladin et Headley, 1999 ; Hudaib et al., 2002 ; Bouhdid et al., 2006). Une étude menée par (Dob et al., 2006) sur les thymus d'Afrique du nord a démontré que le composé majoritaire était le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie. (Bessedik et Khenfer, 2015).

Partie Expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les larves du ver blanc

I.1 Matériel biologique

I.1.1 Matériel végétal

Ce travail a porté sur une plante aromatique, le thym (*Thymus vulgaris*), achetée du marché local de la ville de Mostaganem. La biomasse utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle était à l'état sec, constituée des feuilles, fleurs et tiges.



Figure 09 : *Thymus vulgaris* (Originale, 2018)

I.1.2 Matériel animal

L'insecte étudié dans cette expérimentation est le ver blanc, qui est considérée comme l'un des ravageurs nuisibles des cultures. La récolte des vers blancs a été réalisée; au niveau d'une parcelle située à côté de la ferme expérimentale de Sotravitis, localisé à la commune de Stidia à 15 km de la wilaya Mostaganem.

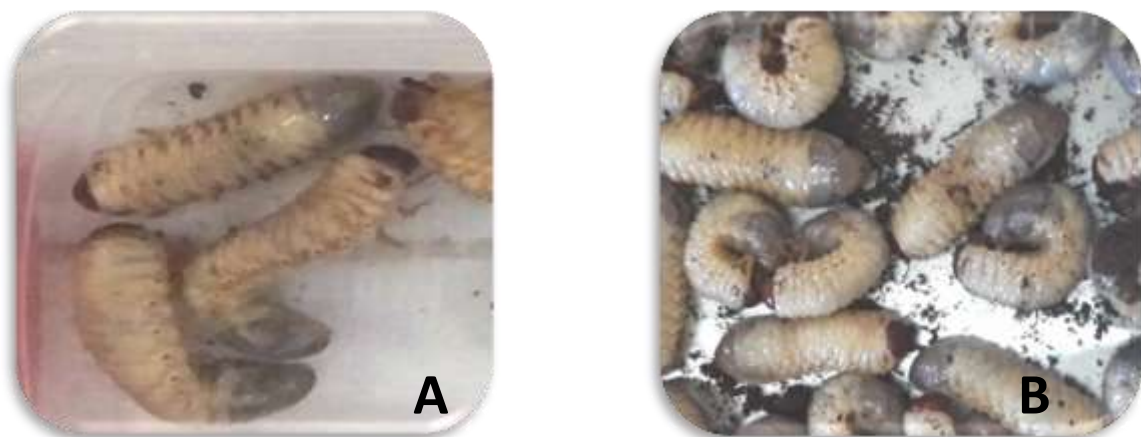


Figure 10 : Dissemblance morphologique des larves de ver blanc récoltées, **A** : individus pour 1^{ier} test, **B** : individus pour 2^{ième} test (Originale, 2018)

Les larves ont été récoltées du même endroit mais en deux temps différents pour lancer les deux tests qui ont été effectués le 19 Mars et le 08 Mai. Nous avons remarqué une grande dissemblance dans l'aspect morphologique des larves (figure 10) en fonction de la période de la récolte du ver blanc. Il s'agit évidemment de deux espèces différentes.

I.2 Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexes renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de l'extraction. Pour extraire ces principes, il existe divers procédés : celui par distillation par entraînement à la vapeur et celui par expression (Ait hellal et hadrbache, 2011).

I.2.1 Matériel d'extraction (Extracteur d'huile essentielle)

La matière végétale sèche a été déposée dans une cocotte-minute (Figure 11) communiquant avec un réfrigérant par un tuyau ça veut dire une extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau réalisée dans un système d'alambic (Kéita et *al.*, 2001).



Figure 11 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau. **1**: plaque chauffante, **2**: cocotte-minute **3**: condensateur, **4**: sortie de l'eau, **5**: réfrigérant, **6**: entrée de l'eau et **7**: tube gradué.

(Originale, 2018)

I.2.2 Méthode d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée dans le laboratoire de biochimie de l'université de Mostaganem à l'aide d'un dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau. Les huiles ont été obtenues par l'entraînement à la vapeur en mettant une quantité de 500 g de la plante sèche dans la cuve sur une grille qui sépare entre la matière végétal et l'eau distillée. L'appareil est porté à ébullition sur une plaque chauffante électrique (02 heures). La vapeur d'eau et les molécules aromatiques condensées ont été récupérées dans un tube gradué dans lequel la décantation a été effectuée. La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de le récupérer facilement.

L'huile essentielles de *T. vulgaris* a été préservée aseptiquement dans un tube protégé avec papier aluminium afin éviter toute dégradation des molécules par la lumière, puis conservé au réfrigérateur pour une utilisation ultérieure.

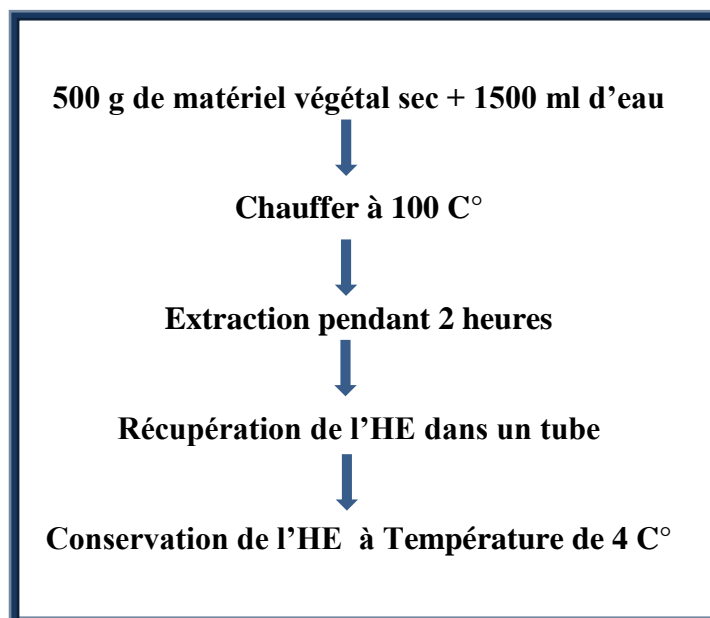


Figure 12: Démarches d'extraction d'HE par entraînement à la vapeur d'eau

I. 2.3 Détermination du rendement

Selon la norme Afnor (1986), le rendement en huile essentielle, est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est donné par la formule suivante :

$$R = (P_h / P_p) \times 100$$

R : Rendement en HE exprimé en pourcentage (%)

P_h: Poids de l'HE en gramme

P_p : Poids de la masse végétative en gramme

I 2.4 Tests de l'activité larvicide

Deux tests biologique ont été réalisés pour évaluer l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis les larves de deux espèces différentes de ver blanc VB₁ et VB₂ (figure 13).



Figure 13: Larves de deux espèces de ver blanc, **VB₁**: individu de l'espèce utilisé au 1^{er} test
VB₂ : individu utilisé au 2^{ème} test (Originale ,2018)

Les bio-essais ont été effectués au laboratoire de la Protection des Végétaux, en déposant délicatement cinq larves de ver blanc dans une boîte en plastique. Le traitement des larves a été effectué par pulvérisation de la solution additionnée d'une goutte de tween 20 sur des lots de 15 individus. Chaque lot reçoit une seule pulvérisation de chaque concentration de telle sorte que les larves soient bien imbibes. Les doses utilisées ont été obtenus à partir de l'huile essentielle de *T. vulgaris* diluée avec l'acétone à 60%. Quatre concentrations ont été préparées soit : 1%, 0.5%, 0.25% et 0,125% (figure14).



Figure 14: Préparation des différentes concentrations (Originale ,2018)

Pour chacune des concentrations de l'HE ainsi que pour le témoin, trois répétitions ont été réalisées (Figure 15). Le témoin est constitué des larves traitées par l'acétone 6 %. Après traitement, les larves ont été recouvertes par du sol provenant de la parcelle d'où les larves ont été ramassées.



Figure 15: Dispositif expérimental du test de toxicité (Originale, 2018)

Les observations ont été effectuées quotidiennement afin de déterminer l'effet larvicide de l'huile essentielle de *T. vulgaris* sur les individus de ver blanc. Les comptages des insectes morts sont effectués après 24 heures des traitements pour les deux tests.

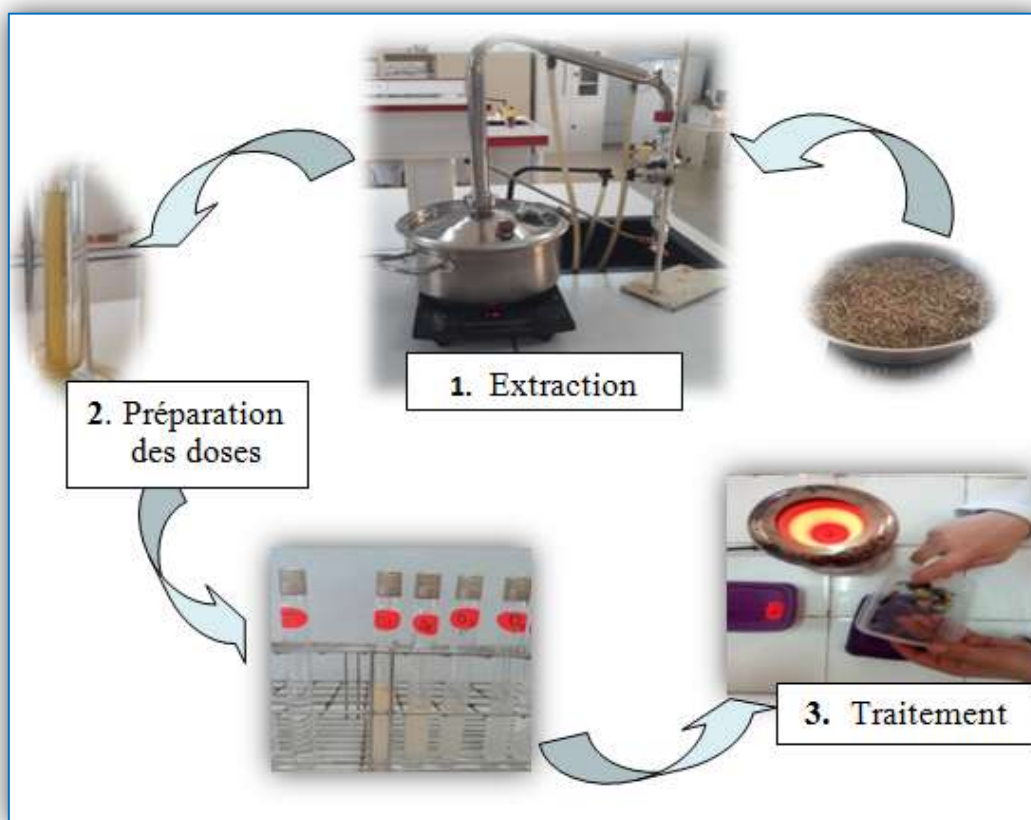


Figure 16 : Etapes du test biologique *in vitro*

Pour éliminer tous les risques de mortalité naturelle, Les mortalités dans les boîtes traitées (M1) ont été exprimées selon la formule d'Abbott (1925) en mortalités corrigées (MC), tenant compte des mortalités observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité corrigée (MC \%)} = [(M1 - Mt) / (100 - Mt)] * 100$$

M1 : est le pourcentage de la mortalité dans le lot traité

Mt : est le pourcentage de la mortalité dans le lot témoin

Pour estimer l'efficacité de l'huile testée sur les larves du ver blanc, des droites de régression doivent être réalisées en dressant le pourcentage de mortalité corrigé en fonction des doses de traitement. Cela permis la détermination de la dose létale pour 50% de la population larvaire (DL50).

II. Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis l'entomopathogène *Beauveria sp.*

Les méthodes du laboratoire qui permettent d'estimer les propriétés d'un produit *in vitro* sont nombreuses, mais reposent toutes sur le même principe, celui de confronter la substance antimicrobienne (fongicide, bactéricide, insecticide,...) et l'agent pathogène (champignons, bactéries, insectes,...) sur un support artificiel (Bessedik et khenfer, 2015).

II.1 Matériel fongique

Au cours de ces essais nous avons utilisé un entomopathogène autochtone qui a prouvé son efficacité sur les larves de *Tuta absoluta* (Badaoui, 2017).

Un isolat de *Beauveria sp.* nous a été fourni par le laboratoire de protection des végétaux. Il produit des colonies cotonneuses de couleur blanchâtre à jaunâtre (figure 17(A)) et forme des hyphes transparents et septaux de 3,5 μm de diamètre. Le genre est caractérisé par un conidiophore à base renflée et à extrémité terminale en zigzag formant de façon sympodiale de petites spores unicellulaires (Ziani, 2008).

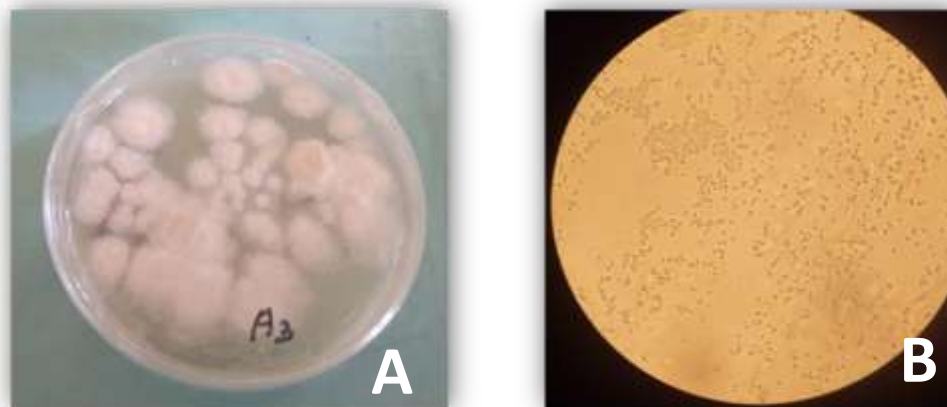


Figure 17 : Champignon entomopathogène autochtone *Beauveria sp.*. **A**: aspect macroscopique et **B**: aspect microscopique (Originale 2018).

II.1.1 Préparation de solution sporale

Les spores ont été récoltées des cultures de la souche *Beauveria sp.* en grattant avec un scalpel la surface des cultures puis en mettant ce prélèvement dans 20 ml d'eau distillée stérile. Après agitation, et filtration la concentration de la solution entomopathogène a été déterminée en dénombrant les spores par la cellule de Malassez. La densité de la suspension sporale a été ajustée 10^8 spores/ml.

II.2 Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentrations de l'huile essentielle

Compte tenu de la non miscibilité des huiles à l'eau et par conséquent au milieu de culture, une mise en émulsion de ce huile a été réalisée par le tween 20 afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé (Remmal *et al.*, 1993 ; Satrani *et al.*, 2001). Les solutions de différentes concentrations en huile essentielles avec le tween 20 sont incorporées dans 100 ml du milieu de culture PDA pour obtenir quatre doses différentes (0,5%. 0,25%. 0,125% et 0,062%). Le mélange de chacun des milieux, est coulé dans des boites de Pétri étiqueté. Après solidification, le milieu estensemencé et incubé.

II.3 Essais de l'activité antifongique

L'huile essentielle à tester est incorporée à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé. Il s'agit de la méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique (Fandohan, 2004).

Deux techniques ont été utilisées, pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, vis-à-vis l'entomopathogène autochtone *Beauveria sp.*

A. Première technique (Technique de repiquage)

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, un fragment de culture fongique de 6mm de diamètre a été découpé à partir d'un tapis mycélien âgé de 21 jours, puis a été déposé au centre de la boite de Pétri. Pour chaque concentration, trois répétitions sont préparées de la même façon. Deux témoins avec trois répétitions ont été retenus, le PDA sans HE a servi comme témoin négatif (T1) et un témoin avec le tween a servi de témoin positif (T2).

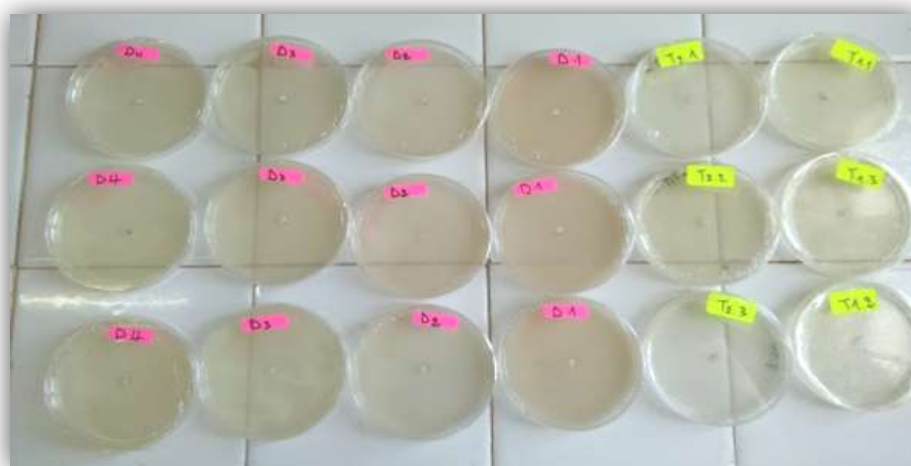


Figure 18: Dispositif expérimental de la technique de repiquage utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de *T. vulgaris*

Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées hermétiquement et incubées à 25°C. Des mesures quotidiennes de diamètre des colonies ont été effectuées pour chaque concentration afin d'évaluation de la croissance mycélienne, le taux d'inhibition et la vitesse de croissance de la souche étudiée. Les mesures sont prélevées jusqu'au remplissage des boîtes des témoins.

B. Deuxième technique (Technique d'étalement)

300 µl de la suspension sporale de *Beauveria sp.* (10^8 spores/ml) a été déposée sur la surface de la gélose, puis étaler à l'aide d'une pipette pasteur stérile, les boîtes sont ensuite incubées à 25°C. Pour chacune des concentrations de l'huile essentielle dans le milieu de culture PDA (0,5%, 0,25%, 0,125% et 0,062%) ainsi que pour les témoins négatif (PDA sans HE) et le témoin positif (PDA + tween), trois répétitions ont été réalisées (figure 19). L'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne.



Figure 19: Dispositif expérimental de la technique d'étalement utilisée pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE de *T. vulgaris*

II.4 Evaluation de la croissance mycélienne

Pour la première technique, la croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu de l'explant mycéliens. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque concentration. La lecture est réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils ont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions.

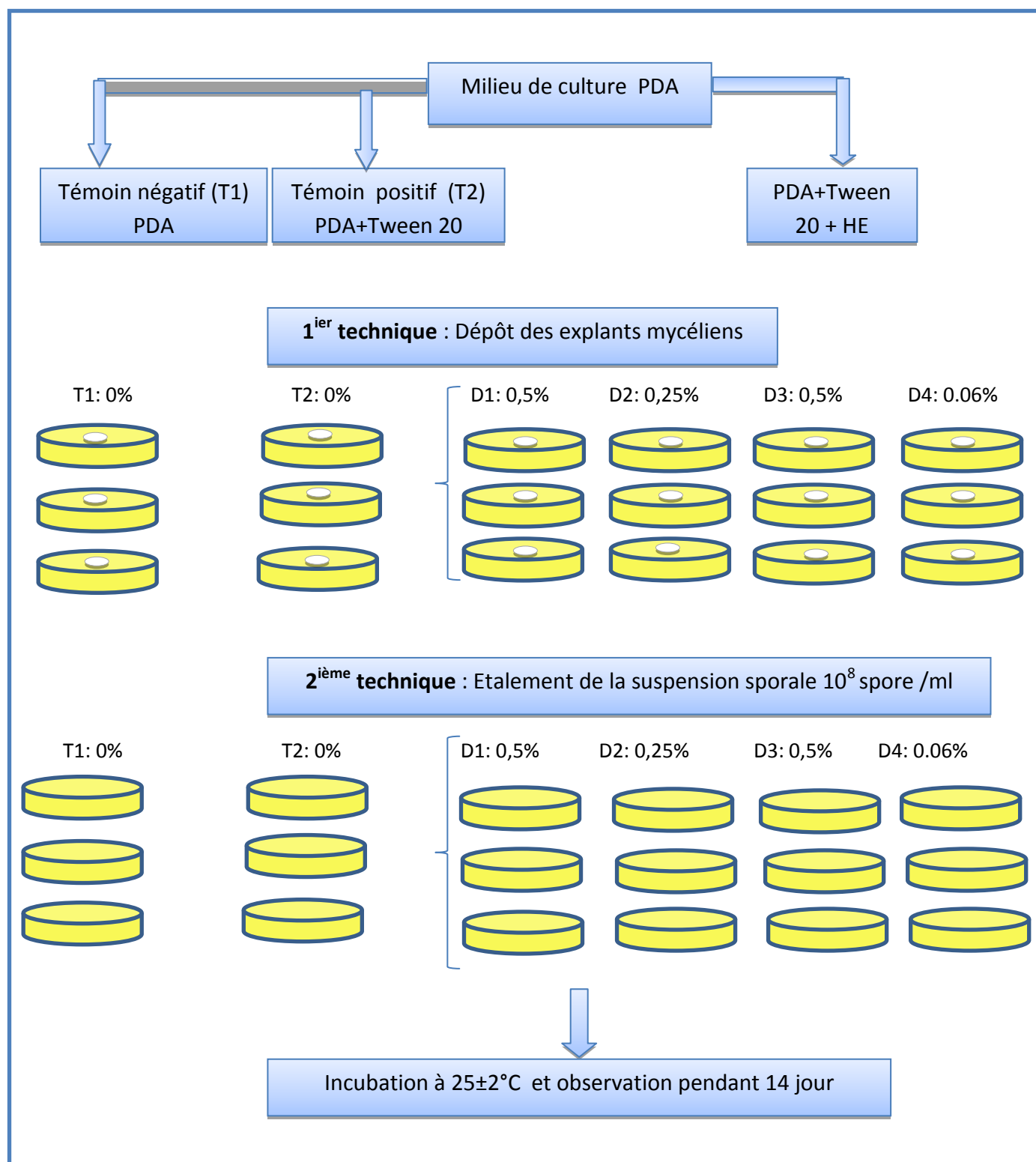


Figure 20 : Protocole expérimentale de l'essai d'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

La technique employée pour le calcul de la croissance mycélienne est celle décrite par Brewer (1960), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en les appliquant à la formule suivante :

$$L = (D - d) / 2$$

L : croissance mycélienne
 D : diamètre de la colonie
 d : diamètre de l'explant (6mm)

II.4.1 Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (TI%)

Les résultats obtenus à partir de l'estimation de la croissance mycélienne sont aussi exprimés en taux d'inhibition par rapport à la croissance mycélienne du témoin. La technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies de champignons après le temps d'incubation requis puis résoudre l'équation (Kordali et al., 2003).

$$TI (\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

TI(%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage
 dC : Diamètre de colonies dans les boîtes
 dE : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

L'huile essentielle est dite :

- très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite très sensible.
- active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite sensible.
- moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la souche est dite limitée.
- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la souche est dite peu sensible ou résistante.

II.4.2 Détermination des concentrations minimale inhibitrices (CMI)

La CMI représente la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'oeil nu après l'incubation (Bassole et al., 2001). Les boîtes de Pétri dont les concentrations ayant montré une absence totale de la croissance mycélienne ont été sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices. Il s'agit d'évaluer la plus petite concentration pour laquelle aucun développement n'est visible à l'œil nu.

II.4.3 Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM)

Selon Cahagnier et Molard (1998), la vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule:

$$\text{VCM} = [D1/Te1] + [(D2-D1)/Te2] + [(D3-D2)/Te3] + \dots + [(Dn-Dn-1)/Te_n]$$

Di: diamètre de la zone de croissance chaque jour (mm).

Te: temps d'incubation

Chapitre II

Résultats et discussion

I. Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les larves du ver blanc

I.1 Détermination du rendement

Le rendement de l'huile essentielle obtenue par l'entraînement à la vapeur de la plante aromatique *Thymus vulgaris* est de l'ordre de 3.25 % .Cette huile a une couleur jaune (figure 21) très odorante, chaude et âcre, elle laisse déposer par le repos des cristaux cubiques (Guillaumin, 1841).



Figure 21: Huiles essentielles de *Thymus vulgaris* (Originale 2018)

I.2 Sensibilité des larves des vers blancs aux huiles essentielles

Après la mort des larves suite aux traitements nous avons remarqué les mêmes symptômes pour les deux espèces de ver blanc VB1 et VB2. Elles prennent généralement un aspect mou, une forme aplatie et brûlée, une couleur brune foncée puis noire, la paroi devient flexible, en dégageant une odeur désagréable.



Figure 22 : Larves mortes après traitement par l'HE de *Thymus vulgaris* (Bousnane et Ghani, 2017).

Suite aux bio-tests réalisés *in vitro*, on peut avancer que l'huile essentielle de *T. vulgaris* présente une efficacité importante vis-à-vis les larves du ver blanc et peut être considérés comme bio-pesticides intéressants susceptibles d'être préconisés dans le cadre de la lutte biologique. En plus de son effet larvicide, cette huile a provoqué une inhibition totale de la croissance mycélienne de l'entomopathogène autochtone *Beauveria sp.* sous l'effet de la plus faible concentration (0.06%) d'HE utilisée. Les résultats obtenus montrent que cette dose inhibitrice de la croissance du champignon est inférieure aux doses de l'HE ayant donné une activité larvicide sur les larves de ver blanc. Il est donc nécessaire de réfléchir avant de tenter la possibilité de mener une lutte biologique en combinant l'action des deux agents de bio-contrôle (l'HE de *T. vulgaris* et l'entomopathogène *Beauveria sp.*) pour réguler les populations larvaire du ravageur.

Conclusion

Conclusion

Le ver blanc a provoqué des dégâts considérables en Algérie. Les programmes de lutte suivis par l'INPV n'ont pas aboutis à contrôler la pullulation de ce phytophage à cause de son biotope édaphique qui rend son élimination très difficile. La recherche des méthodes alternatives, devient la préoccupation majeure du ministère de l'Agriculture. Notre travail consistait à évaluer *in vitro* la potentialité de l'huile essentielle de *T. vulgaris*, comme larvicide botanique pour lutter contre ce déprédateur et de tester en même temps l'effet de cette huile sur l'entomopathogène *Beauveria sp.*.

Les résultats des tests de l'activité insecticide montrent que les larves de l'espèce VB1 sont fortement sensibles à l'effet de l'HE de *T. vulgaris* en comparaison avec la deuxième espèce VB2. Des taux de mortalité supérieure à 59% au 8^{ième} jour ont été observés pour l'espèce VB1; tandis que pour VB2 moins de 30% de la population larvaire a été éliminé au même jour. La dose 0.25% de l'HE de *T. vulgaris* a provoqué le maximum des mortalités pour les deux espèces de ver blanc. Pour VB1, 86.67% des individus ont été éliminés au 13^{ième} jour alors que pour l'espèce VB2 moins de 74% de mortalité est enregistrée six jours après (19^{ième} jour).

L'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis le champignon entomopathogène *Beauveria sp* indique que cette huile a une capacité inhibitrice à 100% de la croissance mycélienne de la souche testée suite à l'application des différentes concentrations ; 0.5%, 0.25%, 0.125% et 0.062%.

Ces résultats bien que préliminaires, témoignent que l'huile essentielle de *T. vulgaris* présente une efficacité importante vis-à-vis les larves du ver blanc et peut être considérés comme bio-pesticide intéressant susceptible d'être préconisés dans le cadre de la lutte biologique. En plus de son effet larvicide, cette huile a un effet fongicide sur l'entomopathogène *Beauveria sp.* ; il est donc nécessaire de réfléchir avant de tenter la possibilité de mener une lutte biologique en combinant l'action des deux agents de bio-contrôle pour réguler les populations larvaire du ravageur.

Comme perspectives, il serait préconisable de relancer ces tests sur le ravageur et ses auxiliaires indigènes, afin de choisir la dose optimale qui contrôle le phytophage et en même temps protège ses ennemis naturels utilisés dans le cadre de la lutte intégrée.

Références bibliographiques

- Abgrall J.F., (1991).** Observations biologiques et essais de lutte contre le hanneton commun dans les vergers à graine. RFF XLIII – 6 – 1991, p. 489-500.
- Abi-Ayad. F et Abi-Ayad. M, (2012),.** Eude antimicrobienne de l'huile essentielle du Thuya de berberie.p19
- Abbad, S. et Abbad, Z., (2015).** Evaluation de l'activité larvicide des extraits d'Origanum vulgare L sur la mineuse de la tomate Tuta absoluta Meyrick (Lepidoptera, Gelchiidae) , mémoire de master II , Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis .
- Afnor (1986).** Recueil des Normes Française « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57
- Aiboud. K ., (2012).** Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de *Vigna unguiculata* (L.) Walps . Thèse de doctorat, UMMTO . Tizi Ouzou.
- Ait Hellal. A ;Khemissi. H (2011).** Les techniques d'extraction des huiles essentielles par Micro-ondes .p14 ; 16 ;17.
- Amiot. J., (2005)** .Thymus vulgaries, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier.
- Anonyme, (2000).** Lutte efficace contre les vers blancs. Feuillet de renseignements..Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, juin 2000.
- Anonyme, (2006).** Notice technique de Syngenta : Vers blancs sur céréales. n° 02. P4.
- Anonyme, (2013).** Hannetons et vers blancs. Note nationale BSV.bulltin de santé végétal. DGAI – SDQPV, 2013
- Bassole I. H. N., Ouattara A. S., Nebie R ., Ouattara, C. A. T. Kabore, Z. et Traore, S.A. (2001).** Composition chimique et actlvites antibacteriennes des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *cymbopogon proximus* (stapf.) et *d'ocimum canum* (sims). Pharm. Méd.Trad. AF , Vol.II, pp.37-51
- Belbel. Ch et Smaili. A., (2015).** Etude écologique des vers blancs (scarabeidae rhizotrogini) dans la région de Mila. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P
- Benazzeddine,S., (2010)** - Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis-à -vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae) , Mémoire d'Ingénieur en agronomie , Alger : Ecole nationale supérieure agronomique .
- Benner. Jill P., (1993).** Pesticidal compounds from higher plants, .Pestic.Sci, 39: 95-102 .
- Bessedik. M et Khenfer. B., (2015).** Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L). Mémoire Master Université Kasdi Merbah OUARGLA .P 51
- Bonzi. S., (2007).** Efficacité des extraits aqueux de quatre plantes dans la lutte contre les champignons transmis par les semences de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) : cas

- particulier de *Colletotricum graminicola* (Ces.) Wilson et *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema, Dorenbosch et Van Kesteren, Mémoire de diplôme d'études approfondies en gestion intégrée des ressources naturelles. Burkina faso.
- Bousnane N. et Ghani A., (2017).** Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* sur le ver blanc de la vigne. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master ; université de Mostaganem, 37 p.
- Brewer. D., (1960).** Studies in *Asochyta pisi*. Canadian journal de la végétale philosophie mathématique. Classique Hachette
- Cahagnier B. & Richard-Molard D., 1998.** Moisissures des aliments peu-hydratés, les moisissures. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Ed. : Lavoisier. p :39-41.
- Chami. F., (2005).** Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc. p266.
- Chang S.T., Wang S.Y., Wu C.L., Su Y.C. et Kuo Y.H. 1999.-** Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of *Taiwania* (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) heartwood. *Holzforschung*. vol : (53) .487-490
- Clemente S., Mareggiani G., Broccia A., Malinova V., Ferraro G., (2003).** Insecticidal effect of *La miaceae* species against stored products insects. *Bol. San. Veg. Pl. agas*. 29:421-426.
- Eberhard. T., Robert. A., Annelise. L., (2005).** Plantes aromatiques. Editions
- Fandohan, P. ; Gbenou, J. D et Gnonlofin, B. 2004.** Effect of Essential Oils on the Growth of *Fusarium verticilloides* and Fumonisin Contamination in Corn *J Agric Food Chem* 52 pp .6824-6829.
- Fanny. B., (2008).** Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion. Thèse pour obtenir grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse. 78 p.
- Florence. M., (2012).** Utilisation Thérapeutiques des huiles essentielles: étude de cas en maison de retraite. le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine.
- Fouché J.G; Marquet A; Hambuckers A. (2008).** Les Plantes Médicinales de La plante au médicament conception et Réalisation.
- François. G., (2013).** Élaboration d'une stratégie de lutte contre le scarabée japonais *Popillia japonica* (Newman) (Coleoptera: Scarabaeidae) en pépinières. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.). en microbiologie appliquée. Université du Québec institut national de la recherche scientifique institut Armand-Frappier.
- Guillaumin., (1841).** Encyclopédie du commerçant. Dictionnaire du commerce et des marchandises contenant tout ce qui concerne le commerce de terre et de mer, Bibliothèque municipale de Lyon, France

- Henn. T et Weinzierl. R., (1989).** Botanical insecticides and insecticidal soaps. University of Illinois Cooperative, Extension Service, Circular 1989. Farrell B.D., (1998). "Inordinate fondness" explained: Why are there so many beetles" Science, 281.
- Iserin. P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226
- Jean-Luc Clément.** Les substances naturelles insecticides des plantes : rôles et utilisation de la lutte contre les ravageurs des cultures .professeur à l'université de Provence laboratoire communication chimique du CNRS de Marseille.
- Karaman S; Digrak M; Ravid Ua; Ilcim A. (2001)** .Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* celak from turkey. j ethnopharmacol .76 : 183-6
- Keane. S et Ryan M.F., (1999).** Purification, characterization and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth , *Galleria mellonella* L , Insect biochemistry and molecular ofbiology Vol 29 (12) , pp1097-1104 .
- Kéïta SM1, Vincent. C, Schmit. J, Arnason. JT, Bélanger. A., (2001).** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab). and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae] . rticle (PDF Available) in Journal of Stored Products Research 37(4):339-349 · November 2001 with 881 Reads.
- khodja. A. Bekkouche. S., (2016).** Etude bio écologique et systématique des vers blancs (Melolonthinae, Rhizotrogini) dans deux stations (Ain Smara et el Meridj Constantine –Est Algérien), mémoire de master 2, Constantine : Université des Frères Mentouri , p
- Kulevanova S; Panovska Tk. (2002)** .Inhibition of thermal autooxidation of lard by antioxidative action of *Thymus extracts*. acta pharm.52 :29-35
- Légaré. J-P et Joseph. M, Bourdon. K., (2015).** Les vers blancs. Laboratoire de diagnostic en phyto-protection MAPAQ. Québec.
- Nageleisen L.M et Meyer J (2015)** . Hannetons : essaimage massif dans l'Est de la France en mai 2015 ; département de la santé des forets ; juillet 2015.
- Mamadou. S., (1997).** Effet de l'extrait aqueux des feuilles de neem (*azadrachta indica* a. juss) sur la population de thrips et le rendement du niebe (*vigna unguiculata*).rapport de stage au Senegal. ISRAKNRAIBambey .
- Morales. R., (2002).** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : Thyme : the genus *Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43 .
- Naghdi. B; Yazdani. D; Mohammad. A et Nazari. F ., (2004).** Effets of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thymue,*thymus vulgaris* industrialcorps and products 19 : 231-236.
- Ngamo L. S. T., & Hance T., (2007).** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical, *Tropicultura J.*, 25 (4), pp: 215-220.
- Ngamo L. S. T., & Hance T., (2007).** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical, *Tropicultura J.*, 25 (4), pp: 215-220.

- Obengofori D., Reichmuth C.H., Bekele J. & Hassanali A., (1997).** Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles, *Journal of Applied Entomology*, 121, pp: 237-243.
- P.1.P ., (2011).** Tuta absoluta (Meyrick). Un ravageur invasif des cultures maraichères pour l'Afrique sub-saharienne, Belgique [en ligne] , 12 (page consultée le : 27/02/2017) http://pip.coleacp.org/files/documents/Nouveaux_ravageurs_Tuta_absoluta_FR_LOW_pd
- Rasooli I ; Abyaneh M.R. (2004).** Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by aspergillus parasiticus. *food control* 15,
- Rasooli. I ; Abyaneh M.R., (2004).** Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by aspergillus parasiticus. *food control* 15,
- Rhayour. K., (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Présentée en vue de l'obtention du Doctorat National. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah .
- Satrani B; Farah A; Fechtal M; Blaghen M et Chaouch A .(2001).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha et Satureja alpina* du maroc. *ann. fais. exp. chim.* 94(956) :241-250.
- Smeesters., (2013).** Contrôle des vers blancs. Extrait du livre : Guide du jardinage écologique. Éditions Broquet, 2013, 342p.
- Suhar. K.I. et Nielsen P.V.,(2003).** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology* .94: 665-674.
- Tchoumboungang F., P Mi. Jazet Dongmo, M L. Sameza, E.Gaby Nkouaya Mbanjo, G.Tiako Fotso , P. Amvam Zollo , C. Menu.,(2009).** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1), 77-84
- Trombetta D; Saija A; Bisignano G; et al. (2002)** .Study on the mechanisms of the antibacterial action of some α , β unsaturated aldehydes. *lett appl microbiol.* 35 : 285 -90.
- Vittum P. J., M. G. Villani et H. Tashiro., (1999).** 2e ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.;2-Animal and Plant Health Inspection Service. 2006. [en ligne] <http://ceris.purdue.edu/napis/pests/jb/news06/fr35491-jp-io.txt>, consulté le 3 mars 2008.
- Weaver, D. K., F. V. Dunkel, L. Ntezurubanza, L. L. Jackson, and D. T. Stock. (2000).** The efficacy of linalool, a major component of freshly-milled *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae), for protection against postharvest damage by certain stored product Coleoptera. *J. Stored Prod. Res.* 27:213–220 .
- Yahiaoui. D et Bekri. N., (2014).** Etude des méthodes de lutte contre le ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola* blanc) dans la région d'Oran . A PP –Dixième référence internationale sur les ravageurs en agricultures. MONTPELLIER – 22 et 23 octobre.

- Yakhlef. G., (2010).** Études de l'activité biologique des extraits de feuilles de thymus vulgaris L. et laurus nobilis L. magistère biochimie appliquée université el hadj lakhdar – batna. P475 ; 476.
- Zeghad. N., (2012).** évaluation de l'activité antibactériennes de deux plantes médicinales « *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* ». éditions universitaires Européennes.
- ZIANI. J., (2008).** Application de *beauveria bassiana* contre la punaise terne *lygus lineolaris* (palisot de beauvois) (hémiptères: miridés) dans les vignobles. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en biologie. Université du Québec à Montréal.

Annexes

Annexe 01 : Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur le taux de mortalité cumulée des vers blanc de premier teste

Annexe 02 : Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur le taux de mortalité cumulée des vers blanc de deuxième teste.

Annexe 03 : Effet des différentes doses de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur la mortalité corrigée des larves du ver blanc pour le premier test

Annexe 04 : Effet des différentes doses de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur la mortalité corrigée des larves du ver blanc pour le deuxième test

Annexe 05 : Croissance mycélienne (cm) de *Beauveria sp* en fonction du temps et de la concentration en huile essentielle du *Thymus vulgaris*

Annexe 06 : Taux d'inhibition de la croissance myccélienne de *Beauveria sp.* sous l'effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

DOSES	T1%
D1:0,5%	100
D2:0,25%	100
D3:0,12%	100
D4:0,06%	100
T1:PDA	0
T2:Tween	0

Annexe 07 : Vitesse de la croissance mycélienne de *Beauveria sp* sous l'effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

Doses	VCM
T1:0%	0,064
T2:0%+Tween	0.074
D1:0,5%	0
D2:0,25%	0
D3:0,12%	0
D4:0,06%	0