

**UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA 1**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

Département des Biotechnologies

**THÈSE DE DOCTORAT**

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Amélioration des Productions Végétales

CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET ÉVALUATION DES EFFETS  
BIOLOGIQUES DES EXTRAITS VÉGÉTAUX DE *DAUCUS CAROTA* L. ET DE  
*THYMUS NUMIDICUS* POIRET RÉCOLTÉS AU NORD ALGÉRIEN.

Par

**Thoraya DAHMANE**

Devant le jury composé de :

Z.E. DJAZOULI	Professeur, U. de Blida 1	Président
L. ALLAL-BENFEKIH	Professeur, U. de Blida 1	Examinatrice
H. MOHANDKACI-OULEBSIR	Maitre de conférences, U. de Boumerdès	Examinatrice
S. KHEMILI-TALBI	Maitre de conférences, U. de Boumerdès	Examinatrice
N. BEHIDJ-BENYOUNES	Professeur, U. de Boumerdès	Promotrice
A. GUENDOUZ-BENRIMA	Professeur, U. de Blida 1	Co- Promotrice

Blida, 2018

## RÉSUMÉ

### CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET EFFETS BIOLOGIQUES DES EXTRAITS VÉGÉTAUX DE *DAUCUS CAROTA* L. SSP. *CAROTA* ET DE *THYMUS NUMIDICUS* POIRET RÉCOLTÉS AU NORD ALGÉRIEN

Par sa situation géographique remarquable et son climat favorable, L'Algérie constitue un environnement propice pour le développement des espèces animales et végétales. Cependant, cette biodiversité est menacée par une déstabilisation certaine. Ceci est dû principalement à la pollution qui est causée par l'utilisation abusive des traitements chimiques bien efficaces, mais ils restent nocifs. Parmi ces derniers, on cite à titre d'exemple les médicaments et les insecticides synthétiques d'origine chimique.

Au fil des temps, ces traitements chimiques ont montré leur inefficacité à l'encontre des organismes résistants. De ce fait, le recours vers les molécules d'origine naturelle s'est avéré nécessaire et ce dans le but de préserver l'écosystème et garder son équilibre aussi.

La grande diversité de la flore Algérienne, ainsi que la large distribution de plusieurs espèces endémiques et introduites constituent une source redoutable de molécules biologiquement actives. Cette richesse nous à mener à chercher des matières naturelles abondantes dans le pays pour valoriser la flore d'une part et pour l'exploiter d'une manière rationnelle d'autre part.

A travers ce constat, le choix s'est porté sur deux plantes médicinales spontanées, une d'origine asiatique, très abondante en Algérie. Il s'agit de la carotte sauvage ; *D. carota* ssp. *carota* de la famille des Apiaceae. Tandis que l'autre, est endémique du Nord de l'Afrique. Il s'agit du Thym de Numidie ; *T. numidicus* Poiret appartenant à la famille des Lamiaceae.

Les tests phytochimiques préliminaires des deux plantes étudiées ont révélé la présence des polyphénols en quantité considérable, avec la dominance des flavonoïdes. Les dosages quantitatifs par spectrophotomètre UV-V visible des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* ont exprimé des teneurs variées en polyphénols et en flavonoïdes. En effet, l'extrait méthanolique contient la teneur la plus importante en polyphénols totaux avec  $276 \pm 2,67$  mg Eq AG/g MVS et  $114,85 \pm 3,57$  mg Eq Qu/g MVS de flavonoïdes. Par ailleurs, le pourcentage des polyphénols totaux obtenus avec l'extrait méthanolique de *T. numidicus* est plus élevé avec  $280,25 \pm 3,87$  mg Eq AG/g MVS et un taux de flavonoïdes de  $130,26 \pm 1,08$  mg Eq Qu/g MVS.

L'analyse qualitative des E.M.Ls par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a montré la présence de plusieurs constituants chimiques représentés essentiellement par la rutine et la quercétine dans les extraits méthanoliques des deux plantes étudiées.

L'H.E de *D. carota* ssp. *carota* a présenté un rendement de 3,65 % avec la dominance des sesquiterpènes. Tandis que le rendement en H.E de *T. numidicus* est de 2,61 % représenté par un total de composés de 99,04 %, dominés essentiellement par 96 % de monoterpènes identifiés par Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (CG/MS).

D'après l'étude anatomique des organes végétaux de *D. carota* ssp. *carota*, on note la présence des canaux sécréteurs. Et des poils sécréteurs responsables de la production des H.E au niveau de *T. numidicus*.

Les extraits alcooliques de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* testés *in vitro* ont montré une très bonne action insecticide à l'égard des 4 stades larvaires de *T. absoluta*. Par ailleurs, après 24 h d'exposition seulement, les taux de mortalité à la moyenne dose de 5 mg/mL sont supérieurs à 86 %. Quant aux H.Es, ces taux à la dose de 800 µL/L, ils se situent entre 72,75 et 90,87 % après 72 h de traitement.

Concernant l'activité antibactérienne, parmi les E.Vx des deux plantes testés *in vitro*, les extraits alcooliques ont montré la plus forte activité inhibitrice de la croissance des bactéries Gram+ avec des diamètres des zones d'inhibition proches aux diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques synthétiques. Par contre, des

diamètres des zones d'inhibition faibles ont été observés autour d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*. Tandis que, les levures et les souches phytopathogènes sont très sensibles aux extraits alcooliques et à l'H.E.

*In vitro*, Une activité antioxydante remarquable des extraits méthanolique, éthanolique ainsi que les H.Es des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* a été enregistrée avec respectivement des IC<sub>50</sub> de 0,3 - 0,46 et 0,86 mg/mL. En outre, une activité antioxydante plus importante a été marquée avec les E.Vx de *T. numidicus*. On a noté une IC<sub>50</sub> de 0,1 mg/mL pour les extraits méthanolique et éthanolique et de 0,86 mg/mL pour l'H.E. Les antioxydants de référence à savoir le BHT, le BHA et l'A.A ont présenté des IC<sub>50</sub> plus faibles, elles sont respectivement de 0,01 - 0,02 et 0,045 mg/mL.

**Mots clés** : *Daucus carota* ssp. *carota*, *Thymus numidicus*, polyphénols, flavonoïdes, caractérisation physico-chimique, activité insecticide, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

## ABSTRACT

### PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISATION AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE PLANT EXTRACTS OF *DAUCUS CAROTA* L. SSP. *CAROTA* AND *THYMUS NUMIDICUS* POIRET COLLECTED IN THE NORTH OF ALGERIA

The geographical location and climate of Algeria is considered a suitable environment for the growth and development of animal and plant species.

However, this significant biodiversity is threatened by disruption caused by pollution that has resulted from indiscriminate use of chemicals, which can be a double-edged sword. Chemical-based insecticides for instance have become ineffective against resistant organisms, As a result, the use of molecules of natural origin became necessary for the environmental protection and ecological balance.

The great plant biodiversity in Algeria, in addition to the wide geographical distribution of several plant species both endemic and introduced are important sources for the extraction of effective biological molecules. This richness led us to the search of natural molecules which are highly available in the country, with the aim of valuing and exploiting these plants.

Therefore, we have chosen to study two medicinal plants which are widely available in Algeria , one is an Asian origin, the wild carrot ; *D. carota* ssp. *carota* from the family Apiaceae, the second is endemic from North Africa named thyme of Numidia *T. numidicus* Poiret which belongs to the family Lamiaceae.

Preliminary phytochemical screening of the two plants studied revealed the presence of polyphenols in considerable quantities, with dominance of flavonoids.

Quantitative analysis revealed that the methanolic extracts of wild carrot plants contained a high amount of polyphenols :  $276 \pm 2.67$  Eq mg tannic acid/g of dry plant, as well as significant amounts of flavonoids :  $114.85 \pm 3.57$  mg Eq quercetin/g of dry plant. While the methanolic extracts of *T numidicus* contained a higher amount

of both polyphenols and flavonoids, polyphenols:  $280.25 \pm 3.87$  mg Eq tannic acid/g of dry plant, and flavonoids :  $130.26 \pm 1.08$  mg Eq quercetin/g of dry plant.

The qualitative analysis of the methanolic extracts by high-performance liquid chromatography (HPLC), from the two plants showed the presence of several constituents, mainly rutin and quercetin.

The essential oil of *D. carota* ssp. *carota* showed a yield of 3.65 % with the dominance of sesquiterpenes. While the yield of *T. numidicus* essential oil was 2.61 %, represented by a total of 99.04 % compounds, predominantly dominated by 96 % of monoterpenes identified by Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry (GC/MS).

According to the anatomical study of the plant organs of *D. carota* ssp. *carota*, we note the presence of secretory channels, while the secretory hairs are responsible for the production of the essential oil of *T. numidicus*.

The alcoholic extracts of *D. carota* ssp. *carota* and *T. numidicus* tested *in vitro* showed a very good insecticidal activity against four larval stages of the larvae of *T. absoluta*. After 24 hours of exhibition only, the mortality rates in the average dose of 5 mg/mL are higher than 96 %. As for the essential oils, this rate for the dose of 800  $\mu$ L/L, is situated between 72.75 and 100 % after 72 hours of exposition.

Regarding the antibacterial activity, among the two plants tested *in vitro*, the plant extracts showed strong growth inhibitory activity of Gram+ bacteria with diameters of the inhibition zones close to the diameters of the zones of inhibition synthetic antibiotics. On the other hand, diameters of the weak zones of inhibition were observed around *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*.

While, yeasts and phytopathogenic strains showed to be very sensitive to alcoholic extracts and essential oil of the two plants tested too.

*In vitro*, the study showed a significant antioxidant activity of the wild carrot's umbel flower's alcoholic extracts and essential oil extracts, with a value of IC<sub>50</sub> equal to 0.3 mg/mL for the methanolic extract, 0.46 mg/mL for the ethanolic extract, and 0.86 mg/mL for the essential oil extract.

While the IC<sub>50</sub> for the *T. numidicus* was 0.1 mg/mL for both methanolic and ethanolic extract, and 0.86 mg/mL for the essential oil extract.

As for the reference products BHT, BHA and AA, the results were : 0.01, 0.02 and 0.03 mg/mL.

**Keys words:** *Daucus carota* ssp. *carota*, *Thymus numidicus*, polyphenols, flavonoids, physico-chemical characterisation, insectisidal activity, antibacterial activity, antioxidant activity.

## الملخص

### التشخيص الفيزيائي-الكيميائي والتأثيرات البيولوجية للمستخلصات النباتية للجزر البري والزعتر النوميدي المقتطفة من شمال الجزائر

يعتبر الموقع الجغرافي والمناخ الذي تتميز به الجزائر بيئة ملائمة لنمو الكائنات الحية الحيوانية والنباتية، هذا التنوع البيولوجي المهم مهدد بالإختلال نظرا للتلوث الناجم عن الإستعمالات العشوائية للمواد الكيميائية والتي تعتبر سلاح ذو حدين من حيث المنافع والأضرار.

نذكر على سبيل المثال العلاجات الكيميائية التي أصبحت غير فعالة في القضاء على الكائنات الحية الدقيقة على مر الأزمنة. ولهذا يعتبر الرجوع إلى الجزيئات الفعالة ذات المصدر الطبيعي حتمية لا بد منها لأجل حماية الطبيعة والتوازن البيئي.

إن التنوع البيولوجي النباتي الكبير في الجزائر، إضافة إلى التوزيع الجغرافي الواسع لعدة أنواع نباتية سواء المتوطنة (موجودة بشكل حصري) منها أو المستقدمة مصدران مهمان لاستخراج الجزيئات البيولوجية الفعالة، هذا الثراء النباتي قادنا إلى البحث عن مواد طبيعية متوفرة بشكل كبير، وذلك بغرض تثمين واستغلال هاته النباتات.

من هذا المنطلق، قمنا باختيار دراسة نيتتين طبييتين متوفرتان بكثرة في الجزائر، وهما نبتة الجزر البري من أصل آسيوي من عائلة الخيميات، ونبتة الزعتر النوميدي المتوطنة في شمال إفريقيا من عائلة الشفويات.

وقد أظهرت التحاليل الفيتو كيميائية الأولية أنهما تحتويان على كميات كبيرة من متعددات الفولينات، وعلى وجه الخصوص الفلافونيدات.

كشفت الدراسة الكمية احتواء المستخلصات الميثانولية لنبتة الجزر البري على كميات كبيرة من متعددات الفولينات بنسبة  $276 \pm 2,67$  ملغ معادل حمض التانيك/غ من النبتة الجافة، و كميات معتبرة من الفلافونيدات أيضا بنسبة  $3,57 \pm 114,85$  ملغ معادل الكرسيتين/غ من النبتة الجافة. أما نبتة الزعتر النوميدي فالمستخلصات الميثانولية تحتوي على كميات كبيرة من متعددات الفولينات بنسبة  $280,25 \pm 3,57$  ملغ معادل حمض التانيك/غ من النبتة الجافة و كميات معتبرة من الفلافونيدات بنسبة  $1,08 \pm 130,26$  معادل الكرسيتين/غ من النبتة الجافة.

بينما أظهرت الدراسة الكيفية للمستخلصات النباتية الكحولية عن طريق تقنية HPLC على مركبات وجود مركبات كيميائية من نوع روتين و كرسيتين.

و بالنسبة للزيت الأساسي للجزر البري فقد تحصلنا على مردود % 3,65 مع كمية كبيرة السييسكيتربان، بينما كان مردود الزيت الأساسي لنبتة الزعتر النوميدي % 2,61 مع كمية كبيرة من المونوتربان. عن طريق تقنية CG/MS.



أثبتت الدراسة النسبجية للأعضاء النباتية للجزر البري احتوائه على قنوات مفرزة للزيوت الأساسية بينما يحتوي الزعتر النوميدي على شعيرات مفرزة للزيوت الأساسية.

وقد أظهرت المستخلصات الميثانولية المجربة مخبريا لهاتين النباتين نتائج جيدة للنشاط المضاد للحشرات، مقابل تطور الأطوار الأربعة ليرقات توتا أبسوليتا، حيث فاقت نسبة موت اليرقات بعد مرور 24 ساعة فقط % 86 و هذا بتركيز 5 ملغ/ملل. في حين أظهرت نتائج الزيوت الأساسية بجرعة 800 µل/ل نسبة تتراوح بين 72,75 و % 90,87 لموت اليرقات بعد مرور 72 ساعة.

فيما يخص النشاط المضاد للبكتيريا المجرب مخبريا، لهاتين النباتين استنتجنا أيضا أن المستخلصات الكحولية والزيوت الأساسية هي فعالة ضد البكتيريا موجبة الغرام (Gram+) بينما تعتبر البكتيريا سالبة الغرام (Gram-) أكثر مقاومة، أما الخمائر والميكروبات النباتية فقد أظهرت حساسية تجاه هذه المستخلصات.

مخبريا، كشفت دراسة القدرة المضادة للأكسدة لمختلف المستخلصات الكحولية و مستخلصات الزيوت الأساسية المستخرجة من الزهور النباتية للجزر البري نشاطا معتبرا، حيث قدرت قيمة التركيز المثبط 50 (IC<sub>50</sub>) بـ 0,3 ملغ/ملل بالنسبة للمستخلص الميثانولي، و 0,46 ملغ/ملل بالنسبة للمستخلص الإيثانولي و 0,86 ملغ/ملل بالنسبة لمستخلص الزيت الأساسي.

أما بخصوص نبتة الزعتر البري، فقد قدرت قيمة التركيز المثبط 50 (IC<sub>50</sub>) بـ 0,1 ملغ/ملل بالنسبة للمستخلصين الميثانولي والإيثانولي، و 0,86 ملغ/ملل لمستخلص الزيت الأساسي. فيما يخص النتائج المتعلقة بـ BHT و BHA و AA فهي على التوالي: 0,01 ملغ/ملل، و 0,02 ملغ/ملل، و 0,03 ملغ/ملل.

**مفتاح الكلمات:** الجزر البري، الزعتر النوميدي، متعددات الفولينات، الفلافونيدات، التشخيص الفيزيائي-الكيميائي، النشاط المضاد للحشرات، النشاط المضاد للبكتيريا، القدرة المضادة للأكسدة.

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail et en témoignage de ma reconnaissance, je tiens à remercier ALLAH de m'avoir donné la santé, la force et le courage afin d'achever ce manuscrit.

Mes remerciements les plus respectueux vont à Madame BEHIDJ-BENYOUNES N., directrice de thèse, Professeur à la Faculté des Sciences de l'Université M'Hamed BOUGARA, BOUMERDÈS. Votre écoute, votre connaissance scientifique, vos orientations pertinentes, et surtout vos conseils judicieux, tout au long de ce travail m'ont permis de réaliser cette thèse et d'avancer plus pour progresser encore dans mes recherches.

Je remercie vivement Madame GUENDOUZ-BENRIMA A., codirectrice de thèse, Doyenne de la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université SAAD DAHLEB, BLIDA 1, pour m'avoir donné l'occasion de poursuivre mes travaux de recherche, votre disponibilité, votre savoir et votre aide sont à l'issue de ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus profonds aux membres de jury, pour m'avoir honoré afin d'examiner et juger ce travail :

Monsieur DJAZOULI Z-E., Professeur à la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie à l'Université SAAD DAHLEB, BLIDA 1 ; je vous remercie d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse. Veuillez recevoir, l'assurance de ma profonde gratitude.

Madame ALLAL-BENFKIH L., Professeur à la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université SAAD DAHLEB, BLIDA 1, je vous remercie pour vos encouragements, et vos orientations aussi. Veuillez trouver ici le témoignage de mes respects les plus profonds.

Madame MOHANDKACI-OULEBSIR H. et Madame KHEMILI-TALBI S. Maitres de Conférences à la Faculté des Sciences de l'Université M'Hamed BOUGARA, BOUMERDÈS, je vous remercie infiniment pour votre disponibilité.

Veillez trouver ici, l'expression de ma parfaite considération ainsi que mes salutations les plus distinguées.

J'exprime ma gratitude et mes remerciements les plus sincères à Monsieur le Professeur DOUMANDJI S. Directeur du Laboratoire de la Protection des Végétaux en Milieux Agricoles et Naturels contre les Déprédateurs des Cultures, pour m'avoir accueilli dans votre laboratoire en me procurant le matériel nécessaire pour la réalisation de cette thèse.

Je remercie vivement Monsieur BENYOUNES K. Maître de Conférence à la Faculté des Hydrocarbures et de la Chimie de l'Université M'Hamed BOUGARA, BOUMERDÈS, pour vos encouragements, votre aide indéniable et surtout votre disponibilité.

En témoignage de ma profonde gratitude, je remercie Madame CHAOUIA C., Vice Doyenne Chargée de la PGRS à la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université SAAD DAHLEB, BLIDA 1, pour vos précieuses orientations.

Je remercie infiniment toute ma famille, mes amis (es), Amina, Anissa, Djamilia, Faiza, Fazia, Faouzi, Fella, Hafida, Hassina, Ibtissem, Imen B., Imène K., Karima, Kenza, Khaoula, khedoudj, Latifa, Mahdia, Malika, Mme Lilya, Mme Lounis, Mme Mlika, Mounia, Nacéra, Nazli, Rabab, Rachida, Redouane, Sabrina, Sadjia, Sihem A., Sihem B., Souhila, Tassaadit, Wissem, Yassemin, Zakia et Zoubida.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes enseignants qui ont participé à ma formation durant toutes mes années d'études.

J'avoue ma reconnaissance et mes remerciements au personnel du Centre de Recherche et du Développement du Groupe SAIDAL, ainsi qu'à tout le personnel de l'Institut Moyens Agricole Spécialisé de HEURAOUA, pour leurs encouragements, orientations et aides précieuses. Veuillez trouver ici, l'expression de ma parfaite considération.

Enfin, je remercie profondément tous mes amis (es), mes camarades, les agriculteurs et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour l'élaboration et l'accomplissement de cette thèse.

# **DÉDICACES**

***À La Mémoire De Mon Cher PAPA Rebi Yerahmou***

***À Ma Chère MÈRE Rebi Yahfedha***

***À La Mémoire De Mes Grands Parents Rebi Yerhamhom***

***À Mes Chers Sœurs Et Frères***

***À Mes Chers Nièces Et Neveux***

***À Toute Ma Famille***

***À Tous Mes Amis (es)***

***À Tous Mes Chers***

**JE DÉDIE CE TRAVAIL**

**THORAYA DAHMANE**

## TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	I
ABSTRACT.....	II
ملخص.....	III
REMERCIEMENTS.....	IV
DÉDICACES.....	V
SOMMAIRE.....	VI
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....	VII
INTRODUCTION.....	26
CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTABOLITES SECONDAIRES.....	30
1.1. Définition des métabolites secondaires.....	30
1.2. Fonction des métabolites secondaires.....	31
1.3. Classification des métabolites secondaires.....	31
1.4. Composés azotés (Alcaloïdes).....	33
1.5. Terpénoïdes (isoprénoïdes).....	33
1.6. Composés phénoliques.....	34
1.7. Huiles essentielles.....	44
1.8. Modes d'extraction des métabolites secondaires.....	56
1.9. Différentes formes d'utilisation des métabolites secondaires.....	61
1.10. Potentialités biologiques des métabolites secondaires.....	63
CHAPITRE 2 : GÉNÉRALITÉS SUR <i>DAUCUS CAROTA</i> L. SSP. <i>CAROTA</i> ET <i>THYMUS NUMIDICUS</i> POIRET.....	68
2.1. Propriétés des Apiaceae.....	68
2.2. Propriétés des Lamiaceae.....	71
CHAPITRE 3 : QUELQUES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES EXTRAITS VÉGÉTAUX DE <i>DAUCUS CAROTA</i> SSP. <i>CAROTA</i> ET DE <i>THYMUS NUMIDICUS</i> .....	76
3.1. Activité insecticide.....	76
3.2. Activité antimicrobienne.....	82

3.3.	Activité antioxydante.....	83
CHAPITRE 4 : MONOGRAPHIE DE LA ZONE D'ÉTUDE .....		87
4.1.	Situation géographique .....	87
4.2.	Relief.....	87
4.3.	Hydrographie .....	87
4.4.	Végétation.....	88
4.5.	Climat.....	88
CHAPITRE 5 : MATÉRIEL ET MÉTHODES .....		92
5.1.	Matériel.....	93
5.2.	Méthodes.....	97
CHAPITRE 6 : RÉSULTATS ET DISCUSSION .....		138
6.1.	Screening phytochimique.....	138
6.2.	Rendements de l'extraction par solvant .....	141
6.3.	Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	143
6.4.	Analyse qualitative des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> par la HPLC .....	148
6.5.	Huiles essentielles de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> ....	162
6.6.	Etude histo-anatomique des tissus végétaux de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	182
6.7.	Activité insecticide des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à l'égard des larves de <i>T. absoluta</i> .....	190
6.8.	Activité insecticide des E.Vx de <i>T. numidicus</i> à l'égard des larves de <i>T. absoluta</i> .....	231
6.9.	Analyse de la variance de l'action des différents E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> sur les larves de <i>T. absoluta</i> .....	272
6.10.	Analyse de la variance de l'action des H.Es de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> sur les larves de <i>T. absoluta</i> .....	272
6.11.	Activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et des feuilles de <i>T. numidicus</i> .....	282
6.12.	Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> à l'égard des bactéries pathogènes à l'Homme .....	297

6.13.	Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> à l'égard des levures pathogènes à l'Homme.....	297
6.14.	Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> l'égard des souches phytopathogènes .....	298
6.15.	Activité antioxydante des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	307
6.16.	Analyse de la variance de l'activité antioxydante des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	317
CONCLUSION.....		324
APPENDICES.....		331
Appendice A :	Liste des abréviations .....	331
Appendice B :	Matériel non biologique.....	333
Appendice C :	Insecticides chimiques.....	335
Appendice D :	Milieus de cultures.....	336
Appendice E :	Souches microbiennes.....	337
Appendice F :	Préparation des différentes solutions utilisées.....	339
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		340

## LISTE DES ILLUSTRATIONS ET GRAPHIQUES

Figure 1.1 :	Principales voies de synthèse des métabolites secondaires et leurs interactions avec les métabolites primaires [18] ....	32
Figure 1.2 :	Structure principale d'un noyau phénol [16].....	35
Figure 1.3 :	Squelette de base des flavonoïdes [16].....	40
Figure 1.4 :	Schéma de l'appareil de la HPLC [38] .....	44
Figure 1.5 :	Schéma de l'appareil de la CG/MS [64] .....	56
Figure 4.1 :	Variations climatiques dans la région de Bouira (1999-2014).....	90
Figure 4.2 :	Quotient pluvio-thermique d'Emberger de la région de Bouira (1990-2014).....	91
Figure 5.1 :	Matériel biologique (Originale : 2014-2015).....	96
Figure 5.2 :	Dispositif de SOXHLET (CRD-SAIDAL, Originale : 2014).....	112
Figure 5.3 :	Cinétique d'extraction des H.Es (CRD-SAIDAL, Originale : 2014).....	113
Figure 5.4 :	Extracteur pilote (CRD-SAIDAL, Originale : 2014).....	113
Figure 5.5 :	Décantation des H.Es (CRD-SAIDAL, Originale : 2014).....	114
Figure 5.6 :	Appareil de DEAN et STARCK (CRD-SAIDAL, Originale : 2014)	114
Figure 5.7 :	Différentes étapes de réalisation des coupes histologiques (DPFMA, Originale : 2015).....	123
Figure 5.8 :	Techniques d'identification des larves de <i>T. absoluta</i> (LBMFSUB, Originale : 2015) .....	127
Figure 5.9 :	Différentes étapes de réalisation de l'activité antimicrobienne d'un E.V (CRD-SAIDAL, Originale : 2015).....	135
Figure 6.1 :	Rendements de l'extraction par solvant à partir des ombelles florales de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	141
Figure 6.2 :	Rendement de l'extraction par solvant à partir des feuilles de <i>T. numidicus</i> .....	142
Figure 6.3 :	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	144
Figure 6.4 :	Courbe d'étalonnage de la quercétine .....	144



Figure 6.5 :	Profils chromatographiques des étalons à $\lambda = 365$ nm (acide gallique, rutine et quercétine).....	149
Figure 6.6 :	Profil chromatographique de l'extrait hexanique de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	150
Figure 6.7 :	Profil chromatographique de l'extrait de l'éther de pétrole de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	150
Figure 6.8 :	Profil chromatographique de l'extrait butanolique de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	151
Figure 6.9 :	Profil chromatographique de l'extrait chloroformique de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	151
Figure 6.10 :	Profil chromatographique de l'extrait de l'acétate d'éthyle de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	152
Figure 6.11 :	Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	152
Figure 6.12 :	Profil chromatographique de l'extrait éthanolique de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	153
Figure 6.13 :	Profil chromatographique de l'extrait aqueux de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à $\lambda = 365$ nm.....	153
Figure 6. 14 :	Profil chromatographique de l'extrait hexanique de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	156
Figure 6.15 :	Profil chromatographique de l'extrait de l'éther de pétrole de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	156
Figure 6.16 :	Profil chromatographique de l'extrait butanolique des feuilles de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	157
Figure 6.17 :	Profil chromatographique de l'extrait chloroformique de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	157
Figure 6.18 :	Profil chromatographique de l'extrait de l'acétate d'éthyle de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	158
Figure 6.19 :	Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	158
Figure 6.20 :	Profil chromatographique de l'extrait éthanolique de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	159
Figure 6.21 :	Profil chromatographique de l'extrait aqueux de <i>T. numidicus</i> à $\lambda = 365$ nm.....	159
Figure 6.22 :	Courbe de la cinétique d'extraction de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> ..	163
Figure 6.23 :	Profil chromatographique de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	168

Figure 6.24 :	Composés chimiques majoritaires de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	168
Figure 6.25 :	Courbe de la cinétique d'extraction de l'H.E de <i>T. numidicus</i> ....	174
Figure 6.26 :	Profil chromatographique de l'H.E de <i>T. numidicus</i> .....	179
Figure 6.27 :	Composés chimiques majoritaires de l'H.E de <i>T. numidicus</i> .....	179
Figure 6.28 :	Coupe transversale d'une portion de tige de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> observée sous microscope photonique (gr 10X10) (DPFMA, Originale : 2015) .....	183
Figure 6.29 :	Coupe transversale d'une portion de feuille de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Originale : 2015) .....	184
Figure 6.30 :	Coupe transversale d'une portion de racine de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Original : 2015) .....	185
Figure 6.31 :	Coupe transversale d'une portion de tige de <i>T. numidicus</i> observée sous microscope photonique (gr 10X10) (DPFMA, Originale : 2015) .....	186
Figure 6.32 :	Coupe transversale d'une portion de tige de <i>T. numidicus</i> observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Originale : 2015) .....	187
Figure 6.33:	Coupe transversale d'une portion de feuille de <i>T. numidicus</i> observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Originale : 2015) .....	188
Figure 6.34 :	Poil sécréteur de l'H.E au niveau d'une feuille de <i>T. numidicus</i> observé sous microscope photonique (gr 10X100) (DPFMA, Originale : 2015) .....	189
Figure 6.35 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ).....	194
Figure 6.36 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ) .....	196
Figure 6.37 :	Droites de régression des probits de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes doses (L1 <i>T. absoluta</i> ) .....	199
Figure 6.38 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ) .....	200

Figure 6.39 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ).....	204
Figure 6.40 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ) .....	206
Figure 6.41 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ) .....	209
Figure 6.42 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ) .	210
Figure 6.43 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ).....	214
Figure 6.44 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ) .....	216
Figure 6.45 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ) .....	219
Figure 6.46 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ) .	220
Figure 6.47 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ).....	224
Figure 6.48 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ) .....	226
Figure 6.49 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ) .....	229
Figure 6.50 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ) .	230
Figure 6.51 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ) .....	235
Figure 6.52 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ) .....	237
Figure 6.53 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ).....	240
Figure 6.54 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L1 <i>T. absoluta</i> ) .....	241
Figure 6.55 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ) .....	245

Figure 6.56 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ).....	247
Figure 6.57 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ).....	250
Figure 6.58 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L2 <i>T. absoluta</i> ).....	251
Figure 6.59 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ).....	255
Figure 6.60 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ).....	257
Figure 6.61 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ).....	260
Figure 6.62 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L3 <i>T. absoluta</i> ).....	261
Figure 6.63 :	Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ).....	265
Figure 6.64 :	Droite de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ).....	267
Figure 6.65 :	Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ).....	270
Figure 6.66 :	Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de <i>T. numidicus</i> (L4 <i>T. absoluta</i> ).....	271
Figure 6.67 :	Pourcentage de l'efficacité des métabolites secondaires responsables de l'activité insecticide [243].....	282
Figure 6.68 :	IC <sub>50</sub> des antioxydants synthétiques.....	312
Figure 6.69 :	IC <sub>50</sub> des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	313
Figure 6.70 :	IC <sub>50</sub> des E.Vx de <i>T. numidicus</i> .....	316

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 :	Principales classes des flavonoïdes.....	42
Tableau 2.1 :	Répartition géographique de différentes espèces de <i>Thymus</i> [95].....	74
Tableau 5.1 :	Différents solvants d'extraction des métabolites secondaires.....	93
Tableau 5.2 :	Caractéristiques des souches microbiennes testées.....	95
Tableau 5.3 :	Gradients des aglycones libres et des acides phénoliques.....	105
Tableau 5.4 :	Gradients des hétérosides.....	106
Tableau 5.5 :	Cinétique d'extraction des H.Es.....	108
Tableau 5.6 :	Caractéristiques d'identification des larves de <i>T. absoluta</i> [111, 117].....	125
Tableau 6.1 :	Résultats du screening phytochimique des ombelles florales de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	138
Tableau 6.2 :	Résultats du screening phytochimique des feuilles de <i>T. numidicus</i> .....	140
Tableau 6.3 :	Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	145
Tableau 6.4 :	Teneur en acides phénoliques (acide gallique), hétérosides (rutine hydrate) et aglycones libres (quercétine) dans les différents E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	154
Tableau 6.5 :	Teneur en acides phénoliques (acide gallique), hétérosides (rutine hydrate) et aglycones libres (quercétine) dans les différents E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> .....	160
Tableau 6.6 :	Cinétique d'extraction de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	162
Tableau 6.7 :	Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	165
Tableau 6.8 :	Composition chimique de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	167
Tableau 6.9 :	Cinétique d'extraction de l'H.E de <i>T. numidicus</i> .....	173
Tableau 6.10 :	Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E de <i>T. numidicus</i> .....	176

Tableau 6.11 : Composition chimique de l'H.E de <i>T. numidicus</i> .....	178
Tableau 6.12 : Effets des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> .....	191
Tableau 6.13 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	195
Tableau 6.14 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	197
Tableau 6.15 : Effets de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes doses sur la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> .....	198
Tableau 6.16 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	199
Tableau 6.17 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	200
Tableau 6.18 : Effets des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> .....	201
Tableau 6.19 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	205
Tableau 6.20 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	207
Tableau 6.21 : Effets de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes doses sur la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> .....	208
Tableau 6.22 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	209
Tableau 6.23 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	210
Tableau 6.24 : Effets des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> .....	211
Tableau 6.25 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	215
Tableau 6.26 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	217
Tableau 6.27 : Effets de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes doses sur la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> .....	218
Tableau 6.28 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	219
Tableau 6.29 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	220

Tableau 6.30 : Effets des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> .....	221
Tableau 6.31 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	225
Tableau 6.32 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, D.C) .....	227
Tableau 6.33 : Effets de l'H.E de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> à différentes doses sur la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> .....	228
Tableau 6.34 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	229
Tableau 6.35 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (H.E, D.C) .....	230
Tableau 6.36 : Effets des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> .....	232
Tableau 6.37 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	236
Tableau 6.38 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	238
Tableau 6.39 : Effets de l'H.E de <i>T. numidicus</i> à différentes doses sur la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> .....	239
Tableau 6.40 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N) .....	240
Tableau 6.41 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N) .....	241
Tableau 6.42 : Effets des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> .....	242
Tableau 6.43 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	246
Tableau 6.44 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	248
Tableau 6.45 : Effets de l'H.E de <i>T. numidicus</i> à différentes doses sur la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> .....	249
Tableau 6.46 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N) .....	250
Tableau 6.47 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N) .....	251
Tableau 6.48 : Effets des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> .....	252

Tableau 6.49 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	256
Tableau 6.50 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	258
Tableau 6.51 : Effets de l'H.E de <i>T. numidicus</i> à différentes doses sur la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> .....	259
Tableau 6.52 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N) .....	260
Tableau 6.53 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de <i>T. absoluta</i> (T.N, H.E) .....	261
Tableau 6.54 : Effets des E.M.Ls de <i>T. numidicus</i> à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> .....	262
Tableau 6.55 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	266
Tableau 6.56 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (E.M.Ls, T.N).....	268
Tableau 6.57 : Effets de l'H.E de <i>T. numidicus</i> à différentes doses sur la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> .....	269
Tableau 6.58 : Résultats des DL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N) .....	270
Tableau 6.59 : Résultats des TL <sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de <i>T. absoluta</i> (H.E, T.N).....	271
Tableau 6.60 : Analyse de la variance de l'activité insecticide des E.M.Ls de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	272
Tableau 6.61 : Analyse de la variance de l'activité insecticide des H.Es de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	273
Tableau 6.62 : Activité antimicrobienne des antibiotiques synthétiques .....	283
Tableau 6.63 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>E. coli</i> .....	283
Tableau 6.64 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>P. aeruginosa</i> .....	284
Tableau 6.65 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>P. fluoresces</i> .....	284
Tableau 6.66 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>B. subtilis</i> .....	285



Tableau 6.67 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>S. aureus</i> .....	285
Tableau 6.68 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>C. albicans</i> .....	286
Tableau 6.69 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>S. cerevisiae</i> .....	286
Tableau 6.70 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>A. fumigatus</i> .....	287
Tableau 6.71 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>A. niger</i> .....	287
Tableau 6.72 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>Fusarium sp.</i> .....	289
Tableau 6.73 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>R. solani</i> .....	289
Tableau 6.74 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> sur <i>P. carotovorum</i> .....	290
Tableau 6.75 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>E. coli</i> .....	290
Tableau 6.76 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>P. aeruginosa</i> .....	291
Tableau 6.77 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>P. fluoresces</i> .....	291
Tableau 6.78 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx <i>T. de numidicus</i> sur <i>B. subtilis</i> .....	292
Tableau 6.79 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>S. aureus</i> .....	292
Tableau 6.80 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>C. albicans</i> .....	293
Tableau 6.81 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>S. cerevisiae</i> .....	293
Tableau 6.82 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>A. fumigatus</i> .....	294
Tableau 6.83 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>A. niger</i> .....	294
Tableau 6.84 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>Fusarium sp.</i> .....	295
Tableau 6.85 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>R. solani</i> .....	296
Tableau 6.86 :	Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>T. numidicus</i> sur <i>P. carotovorum</i> .....	296

Tableau 6.87 : Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et <i>T. numidicus</i> à l'égard des bactéries pathogènes à l'Homme.....	297
Tableau 6.88 : Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> à l'égard des levures pathogènes à l'Homme. ....	298
Tableau 6.89 : Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> à l'égard des souches phytopathogènes. ....	298
Tableau 6.90 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHA, BHA et l'A.A.....	308
Tableau 6.91: Variation du pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction des concentrations des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> .....	308
Tableau 6.92 : Variation du pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction des concentrations des E.Vx de <i>T. numidicus</i> .....	309
Tableau 6.93 : IC <sub>50</sub> des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et les antioxydants de référence.....	313
Tableau 6.94 : IC <sub>50</sub> des E.Vx de <i>T. numidicus</i> et les antioxydants de référence	316
Tableau 6.95 : Analyse de la variance de l'activité antioxydante des E.Vx de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> et de <i>T. numidicus</i> .....	317

# **INTRODUCTION**

---

## INTRODUCTION

A travers les âges, l'Homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base comme la nourriture, l'abri, les vêtements et également pour ses besoins médicaux [1].

Il est actuellement prouvé qu'environ 20 % des espèces végétales poussant dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques. Ces molécules actives sont appliquées dans divers domaines, en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture [2, 3].

Le continent Africain est l'un des continents les plus dotés d'une biodiversité très riche dans le monde avec une avalanche de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et en phytothérapie traditionnelle aussi [4].

Les conditions écologiques, édaphiques de l'Algérie, sa position au milieu de l'Afrique, son rapprochement de la Méditerranée, ainsi que son importante superficie favorisent le développement des végétaux et des animaux. Ces derniers lui confèrent une flore et une faune très riches et très diversifiées en genres et en espèces.

D'après QUEZEL et SANTA [5], l'Algérie comporte 3000 espèces végétales appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15 % sont endémiques. Mais elles restent très peu exploitées et valorisées du point de vue phytochimique et biologique aussi.

Cependant, cette biodiversité est menacée par une déstabilisation certaine. Ceci est dû principalement à la pollution causée essentiellement par l'utilisation abusive des traitements chimiques bien qu'ils soient efficaces ; mais ils restent nocifs aussi. Parmi ces derniers on cite à titre d'exemple les médicaments et les pesticides synthétiques.

A l'heure actuelle, la tendance mondiale vers les produits naturels nous mène à la recherche des alternatives d'origine biologique aux produits chimiques dans les différents domaines. Il est très important de mentionner que cette solution est une urgence signalée par l'OMS, dont le but est d'empêcher la prolifération des dangers causés par ces produits sur la santé des êtres vivants en particulier et sur l'environnement en général.

A cet effet, l'évaluation des propriétés biologiques des plantes demeure une solution très urgente et très utile, notamment pour les plantes aromatiques et médicinales aussi.

Par conséquent, afin de découvrir de nouvelles sources de traitements biologiques dans divers domaines, la recherche des substances naturelles surtout les composés actifs représentés essentiellement par les métabolites secondaires évoque un thème porteur par de nombreux chercheurs.

Selon BENKIKI [6], les métabolites secondaires font et restent l'objet de multiples recherches *in vitro* et *in vivo*, particulièrement dans le développement de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles.

Ces extraits végétaux constituent une voie très prometteuse, car par la complexité de leurs constituants chimiques ne présentent aucune résistance de la part des micro-organismes même à long terme, et ne causent pas de danger sur les êtres vivants et leur environnement [7].

L'utilisation des pesticides a été récemment révisée et limitée par les législations européennes. La gestion des bioagresseurs s'oriente de plus en plus vers le respect de l'environnement, la sécurité alimentaire et la santé humaine et animale.

Récemment, pour protéger tous les écosystèmes, l'accent a été mis sur la protection biologique en favorisant l'utilisation des biopesticides pour la diminution des ennemis naturels ou leurs produits dérivés [8, 9].

Par ailleurs, ces substances végétales constituent aussi un moyen de lutte considérable à l'égard des agents pathogènes humains et animaux d'une manière efficace et rationnelle [9-11].

A la lumière de ce constat, et à travers des études ultérieures menées sur les activités biologiques des extraits végétaux. Le choix a été porté sur deux plantes médicinales très répandues à l'état spontané en Algérie.

Une plante sauvage appelée communément la carotte sauvage, *Daucus carota* (L.) ssp. *carota* qui est une bisannuelle des climats tempérés, appartenant à la famille des Apiaceae, et l'autre endémique du Nord de l'Afrique. Il s'agit du Thym de Numidie, *Thymus numidicus* (Poiret) appartenant à la famille des Lamiaceae.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui vise à évaluer l'efficacité biologique des différents extraits végétaux obtenus à partir des deux plantes citées ; ainsi que la comparaison entre les différents extraits testés au sein de la même plante et entre les deux plantes étudiées.

Ce travail se compose de trois parties, d'abord, une introduction qui traite la problématique exacte du thème. La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique à travers une présentation générale des extraits végétaux, des généralités sur les deux plantes choisies, des généralités sur les activités biologiques et une présentation de la zone d'étude.

La deuxième partie s'intéresse au matériel ainsi qu'aux méthodes suivies pour l'élaboration de cette étude. A ce niveau, on a développé le choix et la récolte du matériel végétal, l'élaboration du screening chimique, la détermination des rendements d'extraction en molécules lourdes, et la détermination de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Ainsi, l'identification des principaux acides phénoliques et flavonoïdes par la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), l'évaluation de la cinétique d'extraction des huiles essentielles, la caractérisation physico-chimiques et l'analyse par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM), la détermination des structures anatomiques des deux plantes étudiées sont détaillées. Les activités biologiques telles que l'activité insecticide, l'activité

antimicrobienne, et l'activité antioxydante des extraits obtenus sont réalisées aussi. Enfin, une analyse statistique des différents résultats obtenus.

La troisième partie de ce travail, est représentée par les différents résultats obtenus avec leurs discussions.

Cette étude se termine par une conclusion résumant les principaux résultats obtenus ainsi que des perspectives sont proposées.

# **CHAPITRE 1**

**GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTABOLITES SECONDAIRES**



## CHAPITRE 1

### GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTABOLITES SECONDAIRES

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques à savoir les glucides, les protéides, les lipides, et les acides nucléiques, ils accumulent fréquemment des métabolites dits : secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente. Mais ces derniers représentent une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire. Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés entre les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc., répartis d'une manière diversifiée chez les végétaux [12].

#### 1.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de la reproduction. Ils sont diversifiés dans les différentes espèces. Ils sont produits soit par les végétaux supérieurs tels que les Pinophyta, les Apiaceae, les Lamiaceae, soit par des micro-organismes soit la pénicilline (*Penicillium notatum* Westling, 1911 de la famille des Trichocomaceae).

Il s'agit d'un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement, ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux [13].

Selon GUILLAUME et CHARROUF [14], ALBRECHT KOSSEL (1891) a introduit le terme métabolites secondaires afin de décrire un large spectre de composés chimiques existants dans les plantes, qui sont probablement

responsables des fonctions essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques.

Ils sont composés essentiellement de molécules volatils (les H.Es) et des molécules lourdes non volatils (les différentes familles phytochimiques) [13, 14].

### 1.2. Fonction des métabolites secondaires

Selon GUIGNARD [15] et BRUNETON [16], les métabolites secondaires participent dans diverses actions à l'intérieur et à l'extérieur de la plante. On cite à titre d'exemple l'attraction des agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits, la protection et la défense de la plante contre l'attaque des pathogènes ou des herbivores. Ils participent aussi aux réponses allélopathiques, la compétition entre les plantes pour la germination et la croissance. Ainsi, il faut noter qu'ils sont considérés comme molécules très utiles pour l'Homme, utilisées comme colorants, arômes, épices, antibiotiques, diurétiques, anti-inflammatoires, herbicides, drogues, etc...

ISERIN et *al.*, [17], souligne qu'il est indispensable de connaître la composition chimique des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme des êtres vivants.

### 1.3. Classification des métabolites secondaires

Selon MACHEIX et *al.*, [12] et BRUNETON [16], les métabolites secondaires dépassent actuellement 200000 substances identifiées appartenant principalement à trois grands groupes (Figure 1.1). Parmi eux, on cite les alcaloïdes ou les composés azotés, les terpénoïdes et les composés phénoliques.

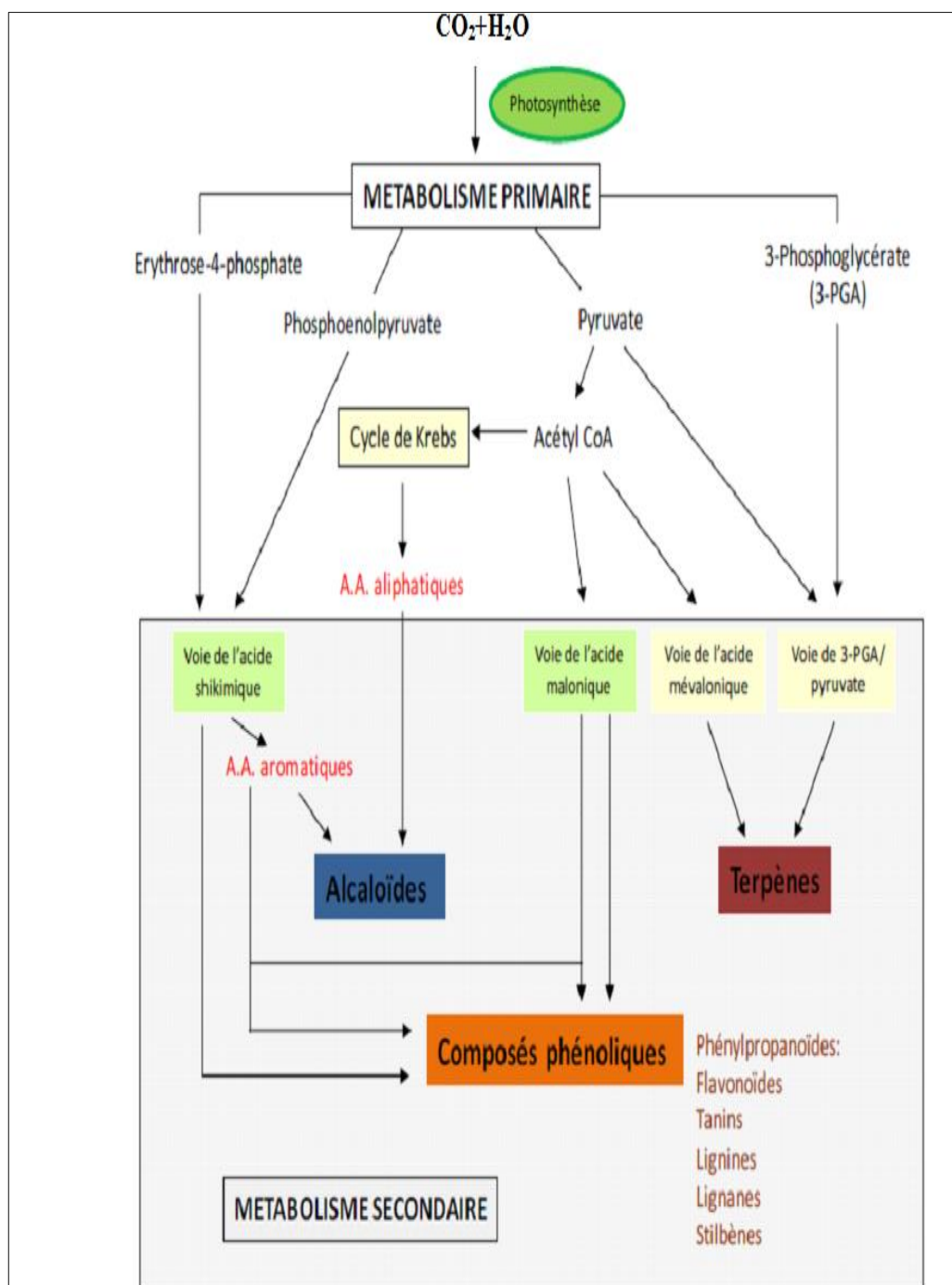


Figure 1.1 : Principales voies de synthèse des métabolites secondaires et leurs interactions avec les métabolites primaires [18]

#### 1.4. Composés azotés (Alcaloïdes)

Les alcaloïdes sont des composés essentiellement présents chez les Angiospermes, en particulier chez les plantes à fleurs. Il s'agit d'un nom générique de diverses substances appartenant à la chimie organique, d'origine végétale. Ils sont localisés dans les tissus périphériques des écorces, des tiges, des racines, et des téguments de graines. Ainsi, ils sont stockés dans les vacuoles cellulaires. La synthèse des alcaloïdes se fait dans des sites précis à savoir les racines en croissance, les cellules spécialisées et les chloroplastes [16].

Ils regroupent une sous famille qui désigne l'ensemble des composés azotés à caractère alcalin et présentant une structure complexe. D'une façon générale, les alcaloïdes sont amers, et ils peuvent être utilisés comme apéritifs. On peut noter la caféine, la mescaline, la nicotine, la théine. Ainsi à forte dose, l'alcaloïde devient un poison [15, 19].

#### 1.5. Terpénoïdes (isoprénoïdes)

Les terpénoïdes ou les isoprénoïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux, ils sont présents essentiellement dans les H.Es, les saponosides ainsi que les glycosides cardiotoniques [20].

##### 1.5.1. Glycosides cardiotoniques

Selon BRUNETON [16] et BUNNEY et *al.*, [21], les glycosides cardiaques sont des substances qui, sous l'action des ferments ou des solutions acides ou alcalines diluées et bouillantes, se décomposent en corps non sucré et en un ou plusieurs sucres tout en exerçant un effet favorable sur la solubilité du glycoside et son absorption. Les hétérosides sont plutôt solubles dans l'eau, légèrement solubles dans l'éthanol et le chloroforme. L'effet thérapeutique de ces hétérosides cardiotoniques est déterminé par la seconde partie, la plus active, nommée aglycone. A partir de leurs compositions chimiques, on distingue plusieurs groupes de glycosides soit les thioglycosides, les glycosides dérivés de l'acide cyanhydrique, les glycosides anthraquinoniques, et les cardio-glycosides.

### 1.5.2. Saponosides

Selon BRUNETON [16], les saponines sont des glycosides terpéniques tensioactifs. Ils forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme les savons. Ainsi, ils sont fortement moussants et constituent d'excellents émulsifiants.

Ce sont des hétérosides naturels dont la matière active est un composé soluble dans l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon, ils modifient ainsi la tension superficielle de l'eau.

Les saponosides sont composés de deux parties à savoir ; les carbohydrates et les aglycones appelés sapogénines. Ainsi ils se divisent en deux groupes à savoir les glycosides stéroïdiens et les glycosides triterpéniques.

### 1.6. Composés phénoliques

Les polyphénols constituent une importante famille du règne végétal qui regroupe des métabolites secondaires d'origine organique de faible poids moléculaire. Ces corps dont leur molécule contient plusieurs fonctions phénols correspondant à une très large gamme de structures [19, 22].

On note environ 9000 structures naturelles élucidées, on les trouve dans les feuilles, dans les racines et dans les fruits aussi. Ce sont des métabolites secondaires élaborés par les plantes jouant un rôle secondaire dans leur fonctionnement. Ils consistent un socle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (biotiques et abiotiques) et dans leur reproduction aussi [19, 22].

Les phénols regroupent environ 10000 composés naturels identifiés, l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Figure 1.2). Auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction à savoir l'éther, l'ester ou l'hétéroside [16, 23].

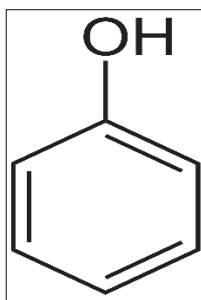


Figure 1.2 : Structure principale d'un noyau phénol [16]

D'après GUIGNARD [15] et BRUNETON [16], la biosynthèse des composées phénoliques se caractérisent par la diversité de leurs molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, ou d'un tissu particulier. Ils sont issus de deux grandes voies d'élaboration des cycles aromatiques :

- La voie shikimate (dérivée de l'acide shikimique) et des drogues qui en contiennent ; des dérivés du l-phénylpropane et des dérivés d'extension du l-phénylpropane.
- La voie polyacétate (composé principalement issus de la cyclisation d'un poly- $\beta$ -cétoester) et des drogues qui en contiennent.

Cependant BRUNETON [16], a précisé que, les composés phénoliques se subdivisent en deux grandes catégories. Il s'agit des composés phénoliques simples et des composés phénoliques complexes. Cette classification est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux.

#### 1.6.1. Phénols et Acides phénols

On appelle phénols ( $C_6$ ), les dérivés hydroxylés du benzène et des hydrocarbures aromatiques, dans lesquels le groupe OH est lié à un atome de carbone du cycle benzénique. Les dérivés polyhydroxylés sont appelés polyphénols. Il est rare de trouver les composés phénoliques libres dans les plantes, le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [16].

Les acides phénols sont des dérivés de C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> et C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Ainsi, la plupart de ces composés proviennent de l'acide cinnamique. Ces composés sont très abondants dans les fruits et les feuilles de l'olivier, libres ou associés à l'acide élénolique [24].

#### 1.6.1.1. Phénols simples

Les phénols simples à savoir le catéchol, le guaiacol et le phloroglucinol sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles telles que les Ericaceae et les Rosaceae [16].

#### 1.6.1.2. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>)

Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont des dérivés de l'acide benzoïque. Ils ont une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Aussi, ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes. Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glycosides [12, 16].

#### 1.6.1.3. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)

Les acides hydroxycinnamique représentent une classe très importante dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique [25].

#### 1.6.1.4. Esters hétérosidiques phénylpropanoïques

Un autre groupe de dérivés phénylpropanoïques comprend des esters phénylpropanoïques d'un hétéroside constitué d'un oligoside, di- ou trioside et d'une molécule de dihydroxyphényléthanol [16].

#### 1.6.2. Coumarines

Les coumarines se trouvent sous forme de dérivés de coumarine et furamocumarine C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Elles appartiennent à un groupe de composés connus par des benzo-pyrone [16].

Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres glycosides. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [26].

### 1.6.3. Lignanes et néolignanes

Le terme lignane désigne habituellement des composés dont leur squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones  $\beta$  des chaînes latérales de deux unités dérivées du l-phénylpropane. Les néolignanes sont également des produits de condensation d'unité phénylpropaniques [16].

### 1.6.4. Extension du phénylpropane (les phénylpropanoïdes)

Les phénylpropanoïdes dérivent de l'acide aminé phénylalanine et peuvent contenir un ou plusieurs résidus  $C_6-C_3$ , ils se composent essentiellement de diaryl-heptanoïdes et aryl-alcanones, des stibénoïdes, des xanthones et des styrylpyrones [16].

### 1.6.5. Tanins ( $C_{15}$ )<sub>n</sub>

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, de saveur astringente, ayant la propriété de tanner la peau. Ils ont la capacité de réagir avec les protéines, en formant des co-polymères stables et hydro-insolubles [16, 24].

Les tanins, ou acides tanniques, sont des composés organiques complexes présents dans pratiquement toutes les plantes. Ils sont localisés dans les vacuoles à des concentrations diverses. Ainsi, ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles, ce qui leur donne un goût piquant désagréable et les rend immangeables pour le bétail [27].

Il existent deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition [28].

#### 1.6.5.1. Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables, sont des esters de glucose et d'acide gallique. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Ainsi, ils libèrent une partie non phénolique souvent du glucose et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide ; il s'agit de l'acide éllagique [15].



#### 1.6.5.2. Tanins condensés

Selon GUIGNARD [15], les tanins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ol dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux.

#### 1.6.6. Quinones

Les quinones sont des pigments naturels, la plupart sont jaunes pâles, rouges ou bruns. Ces couleurs sont masquées par les autres pigments [29, 30].

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa- 2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa- 3,5- diéniq (ortho-quinones), on distingue aussi : les benzo quinones, les naphtoquinones, et les anthraquinones [16].

#### 1.6.7. Lignines

Les lignines sont des mélanges de polymères amorphes de trois constituants fondamentaux. On trouve les alcools hydroxycinnamyliques (p-coumarilique), coniférylique et synapylique. Ainsi, à ces phénylpropanes secondaires s'ajoutent encore de petites quantités d'acide cinnamique et d'aldéhyde cinnamique aussi [19].

La formation de ce phénol polymère est propre à toutes les plantes supérieures. La lignine est contenue dans les tissus végétaux lignifiés à côté de la cellulose et de l'hémicellulose [16].

#### 1.6.8. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composées polyphénoliques, souvent sous forme d'hétérosides, comportant un groupe important de substances très répandues à l'état naturel. Ils sont considérés comme des pigments généralement jaunes quasiment universels des végétaux. Ce sont des molécules douées de plusieurs propriétés biologiques, anti-inflammatoires, antivirales et antibactériennes. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en quinze familles de composés,

dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavannonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes [13].

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous la forme libre ou sous la forme de glycoside. Plus de deux cent d'entre, elles ont été décrites à ce jour. On les trouve, d'une manière très générale, parmi toutes les plantes vasculaires, où elles peuvent être localisées dans les divers organes tels que les racines, les tiges, le bois, les feuilles, les fleurs et les fruits ; bien qu'un type particulier de flavonoïde ait en général une compartimentation définie à savoir les anthocyanes dans les fleurs [16].

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique CHERVREUL en 1814. Mais, ils n'ont été réellement découverts qu'en 1930 par ALBERT SZENT-GYÖRGYUI. Ils ont été désignés sous le nom de la vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins. Cette dénomination furent abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines [24].

Les flavonoïdes constituent un groupe important de substances très répandues dans la nature. Ils représentent un groupe principal des antioxydants et ils forment également une importante famille des colorants naturels où dominant le jaune (flavones), le rouge ou le bleu (anthocyanes). Ces trois couleurs de base peuvent être modifiées par d'autres pigments tels que les chlorophylles, et les caroténoïdes, par chélation avec certains métaux ou par des variations de pH [31].

Ces substances présentent la plus grande classe de polyphénols. Ainsi, on estime que 2 % de l'ensemble du carbone photo-synthétisé par les plantes est transformé en flavonoïdes [32].

#### 1.6.8.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base. Ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitués de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C<sub>3</sub> en formant ainsi l'hétérocycle (C) [16] (Figure 1.3).

Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, en formant une structure de type diphenylpropane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou sucres peuvent être rattachés [16, 33].

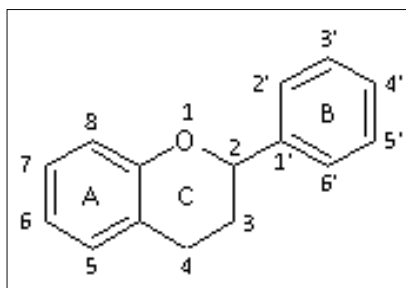


Figure 1.3 : Squelette de base des flavonoïdes [16]

#### 1.6.8.2. Classification des flavonoïdes

Chez les Angiospermes les flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles. Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, parmi elles on distingue (Tableau 1.1) :

##### 1.6.8.2.1. Flavanones

Ils se caractérisent par une cyclisation au centre du squelette, par l'absence de la double liaison entre C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> et par la présence des centres d'asymétrie [34].

##### 1.6.8.2.2. Flavones

Ils dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle. Dans plus de 90 % des flavones, le cycle A est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C<sub>5</sub> et C<sub>7</sub> [16].

##### 1.6.8.2.3. Flavonols

D'après BRUNETON [16] et BROUILLARD et *al.*, [34], les flavonols se différencient des flavones par la présence d'un OH en C<sub>3</sub>. Chez les flavonols, la position 3 de l'hétérocycle est toujours glycosylée et fréquemment la position 7.

#### 1.6.8.24. Biflavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent se lier les uns aux autres, en particulier par leurs carbones, très réactifs, C<sub>6</sub> ou C<sub>8</sub>, en formant un dimère. La majorité des biflavonoïdes naturels sont des dimères de flavones et de flavanones [35].

#### 1.6.8.25. Chalcones

Ils sont dépourvues de l'hétérocycle central, et caractérisées par la présence d'un chaînon tricarboné et cétonique [16].

#### 1.6.8.26. Hétérosides flavonoïdiques

Ce sont des flavonoïdes dont la partie osidique peut être mono-, di- ou trisaccharidique [16].

#### 1.6.8.27. Isoflavonoïdes

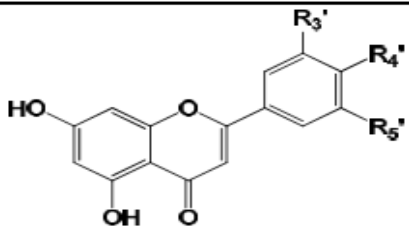
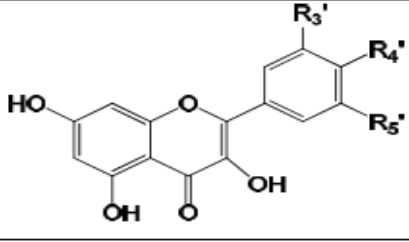
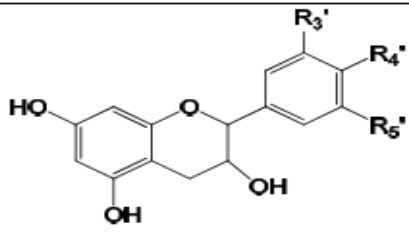
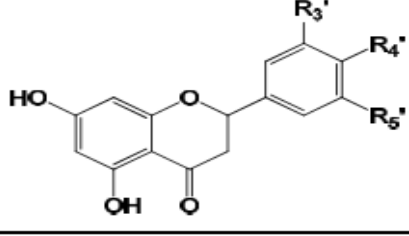
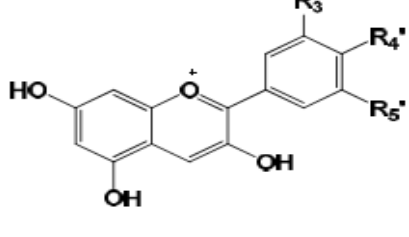
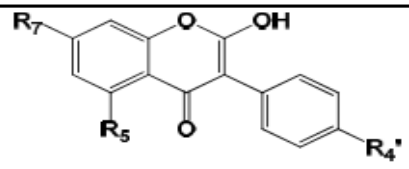
Ils sont caractérisés, comme les flavonoïdes, par un enchaînement en C<sub>15</sub> qui est réarrangé selon un motif 1,2 diphénylpropanique. Toutes les molécules de ce groupe peuvent être rattachées au squelette du 3-phénylchromane. La distribution des isoflavonoïdes est plutôt restreinte. Il faut tenir en compte qu'ils ont été caractérisés chez deux genres de gymnospermes à savoir le Podocarpus L'Hér. Ex., Pers 1807 (Podocarpaceae) et le Juniperus L. (Cupressaceae). Ainsi que chez les angiospermes telles que le Wyethia Nutt. (Asteraceae) [30].

#### 1.6.8.28. Anthocyanides

Le terme d'anthocyane, initialement forgé pour désigner la substance responsable de la coloration des fleurs du bleuet (en grecque anthos, veut dire fleur et kuanos veut dire bleu). Il s'applique à un groupe de pigments hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et des fruits. Ces pigments existent sous la forme d'hétérosides ; les anthocyanosides et leurs génines ; les anthocyanidols sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium, plus communément appelé cation flavylum [16]. Ainsi, ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les, animaux pollinisateurs tels que les insectes et les oiseaux [12].

Le tableau 1.1 représente les principales classes des flavonoïdes [16, 30].

Tableau 1.1 : Principales classes des flavonoïdes

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidzine

#### 1.6.8.3. Localisation et distribution des flavonoïdes

Dans la plupart des cas, les flavonoïdes sont présents sous forme glycosidique dans les vacuoles des fleurs, des feuilles, des tiges ou des racines. Les flavonoïdes aglycones, notamment les flavonoïdes simples et polyméthylés, sont plutôt présents sous forme de cires dans les feuilles, les écorces, et les bourgeons floraux [16, 36].

#### 1.6.8.4. Biosynthèse des flavonoïdes

L'origine des flavonoïdes revient à la condensation d'un triacétate (cycle A) et d'un acide cinnamique (cycle B), la cyclisation engendrant le cycle pyranique central. Cette hypothèse a été confirmée par l'utilisation de précurseurs radiomarqués et par des études au niveau enzymatique, sur la plante entière, sur des cultures de tissus, et les pétales en particulier [13, 16].

#### 1.6.8.5. Séparation et analyse des polyphénols par la HPLC

La HPLC est utilisée généralement en phase inverse, car elle est sans doute la technique d'analyse la plus appropriée pour la caractérisation des extraits végétaux tels que les molécules lourdes de type flavonoïde. Elle présente une haute résolution et une reproductibilité élevée [37].

D'après ROSSET [38], la HPLC se compose d'un réservoir de la phase mobile, d'une pompe, d'un injecteur, d'une colonne et d'un détecteur (Figure 1.4).

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est introduit dans l'injecteur à l'aide d'une micro-seringue ou d'un injecteur automatique, il est ensuite transporté à travers un système chromatographique. Les composés en solution se répartissent, alors, suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire dans la colonne. En sortant de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme. L'amplitude de chaque pic, ou encore l'aire limitée par le pic et la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

En effet, les composés phénoliques absorbent bien les rayonnements ultraviolets, mais aucune longueur d'onde ne peut à elle seule permettre la détection de toutes les différentes classes de ces composés ; parce qu'ils présentent des maximums d'absorption à plusieurs longueurs d'onde

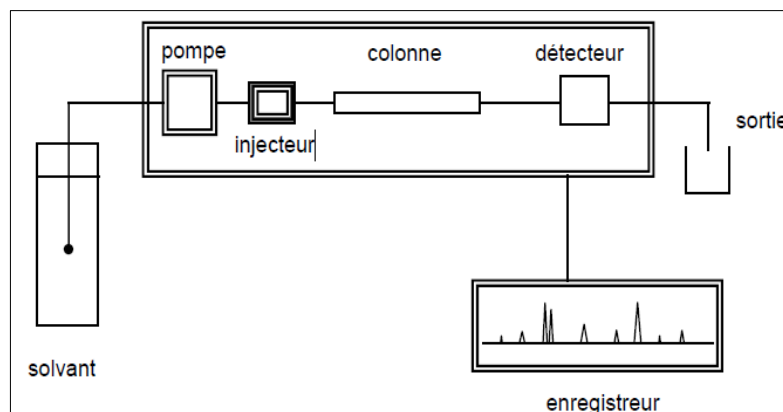


Figure 1.4 : Schéma de l'appareil de la HPLC [38]

### 1.7. Huiles essentielles

Les H.Es sont des produits, le plus souvent, liquides légers plus ou moins épais, ayant une odeur souvent forte très caractéristique. Sur le plan scientifique, l'essence est une sécrétion de la plante contenue dans des micropoches constituant la cellule qui va l'élaborer [39].

D'après BERNARD et *al.*, [40], le terme huile, désigne le caractère visqueux et hydrophobe et le terme essentielle, désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalations. Ce sont des principes volatils généralement odoriférants synthétisés par l'organisme végétal et elles ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses.

En 1992 MARTINI et SEILLER, [41], rapportent que les H.Es sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau.

BRUNETON [16], définit les H.Es comme étant des produits ou essences (huiles volatiles) de composition généralement assez complexe renfermant les

principes volatils contenus dans les végétaux supérieurs. Elles sont obtenues par distillation à l'eau, ou par expression.

En 2000, l'ASSOCIATION FRANÇAISE DE LA NORMALISATION, AFNOR [42], définit les H.Es comme des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de *Citrus* par des procédés mécaniques (pression) et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Dans la nouvelle encyclopédie de FUNK et WAGUALLS (2004), les H.Es sont décrites comme étant des liquides, volatiles, la plupart du temps insolubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, l'éther et les huiles végétales.

Récemment TELPHON et DE PAILLETTE [43], ont défini l'H.E. entant qu'un produit volatile, liquide ou semi-liquide, composé de molécules aromatiques sécrétées par certaines plantes herbacées ou certains arbres.

Enfin, pour d'autres auteurs, les H.Es sont des mélanges de composés lipophiles, volatiles et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés ; elles sont extraites de la plante grâce à des procédés physiques et elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante [44].

#### 1.7.1. Répartition, localisation, production et fonction des H.Es

La répartition, la localisation, la production et la fonction des H.Es sont en fonction de la famille botanique, le genre et l'espèce de la plante aussi.

##### 1.7.1.1. Répartition des H.Es

Selon BRUNETON [16] et REGNAULT-ROGER [45], les H.Es n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs.

On les rencontre dans diverses familles botaniques, 17500 espèces aromatiques appartenant à un nombre limité de famille dont notamment les Myrtaceae tels que les eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill) et le myrte (*Myrtus communis* L.). Les Lamiaceae comme la lavande (*Lavandula stoechas* L.) et la menthe verte (*Mentha. spicata* L.). Les Abieceae soit les pins (*Pinus* sp.) et les



sapins (*Abies* sp.). Les Apiaceae tels que l'anis vert (*Pimpinella anisum* L.), et la carotte sauvage (*D. carota*) et les Lauraceae comme le laurier sauce (*Laurus nobilis* L.), et la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum* J.Presl).

#### 1.7.1.2. Localisation et production des H.Es

Les H.Es se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante, en se formant dans le cytoplasme des cellules spécialisées [46].

La synthèse des H.Es revient aux appareils sécréteurs contenus dans les organes végétaux. Ces appareils sont essentiellement les cellules chez les Lauraceae et les Zingiberaceae, les poils glandulaires chez les Lamiaceae et les canaux sécréteurs chez les Apiaceae et les Asteraceae [16, 45].

D'après BRUNETON [16], NARAYANA et *al.*, [29] et ROSSET [38], les H.Es sont stockées dans tous les organes végétaux. On les rencontre dans le bois comme le bois de rose, *Aniba rosaeodora* Ducke (Lauraceae), dans les écorces, soit la cannelle, *C. zeylanicum*, dans les feuilles chez les eucalyptus, *Eucalyptus* sp.), dans les fruits comme l'anis vert, *P. anisum*, dans les graines à savoir le fenouil, *Foeniculum vulgare* L., dans les rhizomes tel que le gingembre, *Zingiber officinalis* Roscoe, (Zingiberaceae), ainsi que dans toutes les parties ligneuses des plantes. Elles sont aussi contenues dans tous les produits d'excrétions animales comme le musc.

Elles sont souvent plus concentrées dans les brindilles, les fleurs et les graines. Dans une même plante, ces H.Es peuvent exister à la fois dans différents organes. Or la composition chimique de ces dernières peut être différente d'un organe à un autre. Ainsi, dans le cas du citronnier, *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Rutaceae), la fleur et le fruit fournissent des essences de composition chimique différente [47].

Les teneurs en H.Es sont généralement très faibles, à l'exception de celles du bouton florale du giroflier, *Syzygium aromaticum* (L.) (Myrtaceae) où le rendement en H.E atteint largement les 15 % [15].

### 1.7.1.3. Fonctions des H.Es

Les H.Es émises par les plantes sous forme de vapeur ont des fonctions multiples dans la nature. Elles interviennent dans les interactions végétaux-animaux en constituant un langage chimique précis [16, 48].

Les plantes émettent des molécules volatiles pour attirer les éventuels pollinisateurs et aussi pour repousser d'autres insectes indésirables. Ces essences, qui sont des molécules chimiques naturelles, sont par conséquent produites pour inhiber la croissance des plantes voisines ayant une implication anti-germinative et une protection face aux maladies et aux parasites (champignons et bactéries) [16].

Par ailleurs, elles sont une réserve énergétique pour elles en cas de nécessité. Certaines plantes attirent à elles des insectes qui, friands de leur pollen, vont le transporter jusqu'à leur partenaire en permettant ainsi de perpétuer l'espèce végétale [23, 47].

Pour les plantes des régions désertiques, les vapeurs des H.Es saturent l'air autour de la plante et permettent de maintenir une certaine humidité qui empêche la température d'augmenter d'une manière excessive le jour et de baisser au cours de la nuit [49].

### 1.7.2. Propriétés physico-chimiques des H.Es

Les H.Es diffèrent des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et par leurs composition, du fait que leurs tâches sur le papier sont passagères [16]. Ce sont des substances entraînables à la vapeur d'eau, solubles dans les solvants organiques, les alcools, liposolubles, et très peu solubles dans l'eau [13].

Elles sont très sensibles à l'oxydation et elles ont tendance à polymériser. Ainsi, leur point d'ébullition varie de 60 à 240 °C, et leur densité varie de 0,75 à 1,096. Ces H.Es dissolvent les graisses, l'iode, le soufre et le phosphore, et elles réduisent certains sels [39].

Elles sont appréciées pour leurs propriétés organoleptiques à savoir l'odeur, le goût, la couleur et l'aspect, d'où leur utilisation comme matières aromatisantes et parfumantes [48].

Elles sont liquides à température ambiante, volatiles et très rarement colorées. Leurs densité est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception de sassafras, *Sassafras albidum* (Nutt.) Nees (Lauraceae), du girofle (*S. aromaticum*) et de la cannelle (*C. zeylanicum*). Aussi, elles ont un indice de réfraction élevé puisqu'elles sont composées de molécules asymétriques [16].

### 1.7.3. Composition chimique des H.Es

Les H.Es sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants, elles appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes. On distingue d'une part, un groupe très répandu ; les terpènes et d'autre part le groupe des composés aromatiques dérivés de phénylpropane beaucoup moins fréquent [16].

D'après PIBIRI [50], la structure des composés des H.Es est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base sont souvent présents un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. On a plusieurs sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygènes et quelques groupes azotés ou soufrés.

#### 1.7.3.1. Terpènes

Dans le cas des H.Es, on rencontre les terpènes les plus volatils à savoir les mono et les sesquiterpènes [15, 16].

##### 1.7.3.1.1. Monoterpènes C<sub>10</sub>

Ce sont des carbures presque toujours présents, ils peuvent être acycliques, monocycliques, ou bicycliques. Ainsi, ils constituent parfois plus de 90 % de la composition chimique de l'H.E. A ce niveau, on rencontre ; les alcools, les phénols, les aldéhydes, les esters, les peroxydes et les cétones. Ils sont en grande partie responsables de l'odeur des plantes, des fruits ainsi que des feuilles [16, 24].

##### 1.7.3.1.2. Sesquiterpènes C<sub>15</sub>

On trouve dans cette série les mêmes composants ; des carbures, des alcools et des cétones. Ils se distinguent des autres composés par leurs points d'ébullition

élevés se situant entre 250 à 280 °C, une plus forte densité et un indice de réfraction plus élevé [24].

#### 1.7.3.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ce sont des dérivés de phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) ; très souvent des allyl- et prophénylphénols, parfois caractéristiques de certaines H.Es des Apiaceae et aussi des composés de (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) comme la vanilline [16].

#### 1.7.3.3. Composés aromatiques d'origines diverses

Les composés aromatiques d'origines diverses sont des produits résultants de la transformation des molécules non volatiles. Ils contribuent souvent aux arômes de fruits. On peut rencontrer des composés issus de la dégradation des terpènes, des composés issus de la dégradation des acides gras et d'autres composés azotés ou soufrés [16].

#### 1.7.4. Facteurs de variabilités des H.Es

La composition des H.Es d'une espèce donnée dépend de plusieurs facteurs d'origine intrinsèque ou extrinsèque [51].

##### 1.7.4.1. Facteurs intrinsèques

Les facteurs intrinsèques agissent séparément sur la composition chimique des H.Es, ils sont nombreux à savoir :

##### 1.7.4.1.1. Facteurs génotypiques

Les variations de la composition des H.Es provenant d'un même phénotype se développant dans le même environnement sont l'expression de différences génotypiques. Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique ou à des mutations tels que les polyploïdies et les aberrations chromosomiques [40].

Les hybridations introduisent une hétérogénéité dans un peuplement végétal. Il faut mentionner qu'elles sont à l'origine des modifications dans la composition

chimique des essences. En cas de polymorphisme génétique, la composition de l'H.E varie au sein du même genre. A cet effet, elle change selon les races chimiques ou chémotypes ou parfois selon les formes physiologiques quand il s'agit de la même espèce [52].

#### 1.7.4.1.2. Facteurs structuraux

Le potentiel et la composition d'une essence dépendent de l'organe. Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles peuvent produire des H.Es différentes. Ils dépendent également de la nature des glandes sécrétrices [53].

Selon HEINRICH et SCHULTZE [52], les poches situées dans l'exocarpe ou dans l'endocarpe des fruits de *Citrus trifoliata* (L.) génèrent des essences qui diffèrent en monoterpènes et en sesquiterpènes. La position de l'organe végétal sur la plante mère qui sert à l'extraction des H.Es influence à son tour la composition chimique.

D'après AFLATUNI [54], pour obtenir une composition parfaite en H.Es à partir des feuilles, il est conseillé de les récolter dès la partie basale de la plante, puisqu'elles en contiennent plus et donnent une huile renfermant la majorité des composés d'autres organes ; feuilles, fleurs, fruits, et bois.

#### 1.7.4.1.3. Espèce botanique

Selon BRUNETON [16], la composition chimique et les propriétés des H.Es diffèrent d'une manière importante selon les variétés. Il est à mentionner que *Lavandula vera* D.C. variété *fragans* (sauvage) et *L. vera* D.C. variété *maillette* (cultivée) (Lamiaceae) n'ont pas la même composition.

#### 1.7.4.1.4. Facteurs évolutifs

La biosynthèse des principes odorants évolue lors de la maturation de la plante. Elle est prédominante pendant les périodes de forte croissance ou pendant celles correspondantes à des activités métaboliques intenses telles que la floraison et la fructification [40].

PANIZZI et *al.*, [51], signalent qu'une récolte précoce ou tardive entraîne un faible rendement en H.Es. Pour obtenir un rendement élevé en H.Es, il est conseillé de récolter la plante après l'achèvement de la floraison.

DELAQUIS et *al.*, [55], notent que les H.Es produites durant ou immédiatement après la période de floraison possèdent une activité antimicrobienne forte.

La proportion de l'H.E élaborée par la plante n'est pas identique à tous les stades de développement, elle est en relation directe avec la physiologie de la plante, plus précisément le cycle biologique [16].

#### 1.7.4.2. Facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques peuvent être de nature diverse, ils agissent selon plusieurs paramètres, à savoir :

##### 1.7.4.2.1. Origine géographique, écologie et climat

Selon CLARK et MENARY [56], la durée d'exposition au soleil, la température nocturne et diurne, l'humidité, le régime du vent, la pluviométrie, et d'autres facteurs de la même nature sont des paramètres responsables des modifications de la proportion et de la composition chimique de l'essence.

Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la production et la quantité de l'essence. Les rendements en H.Es ainsi que leur composition diffèrent suivant l'origine géographique de la plante [57].

##### 1.7.4.2.2. Nature des sols et techniques culturales

La nature du sol (calcaire, siliceux, etc...), les aspects culturaux comme la densité de culture, l'apport d'engrais, le nombre de récolte par an et l'alimentation en eau affecte d'une manière déterminante la qualité des H.Es et leurs rendement [57].

#### 1.7.4.2.3. Facteurs d'origine technologique

Le mode d'extraction d'une H.E, est une marque de l'empreinte de sa composition chimique. En effet, l'hydrodistillation et la distillation par solvant volatil ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence. La durée et la vitesse de distillation, ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence sur le rendement en H.Es [16].

MORIN et *al.*, [58], confirment que lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réactions chimiques d'altération (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement et autres) sur les composés terpéniques thermosensible de l'essence.

Ces mêmes auteurs notent que les molécules aromatiques d'une H.E sont fragiles et facilement détruites ou altérées à des températures élevées. Donc, le processus de distillation doit utiliser des méthodes à basses températures. Les températures élevées semblent affecter le pH, l'équilibre des charges électropositives et électronégatives des H.Es produites.

Selon BRUNETON [16], un changement très léger dans la durée de distillation peut entraîner des manques de 18 à 20 % dans les constituants chimiques des H.Es.

AIYEGORO et OKOH [59], signalent que les températures élevées de distillation peuvent affectées le rendement en H.Es.

#### 1.7.5. Conservation des H.Es

Les H.Es sont très volatiles et très fragiles, elles doivent être conservées dans des flacons propres secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté anti actinique, presque entièrement remplis sous gaz inerte, fermés d'une façon étanche, de préférence auto jointe c'est-à-dire avec un bouchon scellé pour qu'elles ne s'oxydent pas à l'air libre, et stockés à l'abri de la lumière et de la chaleur afin d'éviter leur polymérisation [16, 42].

En général, le délai de conservation peut aller de six mois à trois ans, selon la nature de l'H.E et la qualité du solvant d'extraction [43, 48].

#### 1.7.6. Toxicité des H.Es

Les H.Es d'usage humain ont une importante toxicité aiguë par voie orale (ingestion), les plus couramment utilisées ont une DL<sub>50</sub> comprise entre 2 et 5 g/kg, concernant l'anis vert (*P. anisum*), l'eucalyptus (*Eucalyptus* sp.) et le girofle (*S. aromaticum*). Une DL<sub>50</sub> supérieur à 5 g/kg pour la citronnelle, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Gramineae) et la lavande (*Lavandula* sp.), ou bien une DL<sub>50</sub> comprise entre 1 et 2 g/kg pour le basilic, *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) et l'estragon *Artemisia dracuncululus* L. (Asteraceae). La toxicité chronique des H.Es est assez mal connue et les effets secondaires ne sont que rarement signalés [16].

Le thym (*Thymus saturejoïdes* L.), l'origan (*Origanum vulgare* L.) et la sarriette, *Satureja montana* L. appartenant à la famille des Lamiaceae sont connus pour leur pouvoir irritant. Tandis que la bergamote (*Citrus bergamia* Risso et Poit.) est photo-sensibilisante. Ainsi, la cannelle (*C. zeylanicum*) est dermocaustique et allergisante pour les terrains sensibles [50].

#### 1.7.7. Analyse des H.Es

La qualité des H.Es repose essentiellement sur leurs caractères physico-chimiques. Les méthodes d'analyse les plus utilisées basées sur des examens morphologiques et microscopiques à l'aide des colorants lipophiles appropriés sont non spécifiques. D'où l'appel au screening phytochimique complémentaire pour une connaissance de leurs constituants, ainsi qu'une détermination quantitative par dosage en utilisant des appareillages spécifiques [13].

La PHARMACOPEE EUROPEENNE [60] ainsi que les normes AFNOR [42], décrivent plusieurs méthodes de contrôle de qualité des H.Es tels que ; les mesures physiques comme l'indice de réfraction, et le pouvoir rotatoire, et aussi la détermination des indices chimiques tels que l'indice d'acide et l'indice d'ester.

Les E.Vx sont généralement des mélanges complexes pouvant contenir des centaines de composés. Pour l'identification et la quantification de ces derniers, on a recours à plusieurs méthodes d'analyse, les plus utilisées restent la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la résonance magnétique nucléaire



(RMN). La MS est aujourd'hui une technique essentielle tant pour l'identification des substances chimiques que pour leur dosage ; elle repose sur la structure du noyau, qui correspond à 99,97 % de la masse de l'atome [38].

#### 1.7.7.1. Chromatographie en phase gazeuse monodimensionnelle (CPG)

Selon ARPINO *et al.*, [61], cette méthode permet l'analyse des mélanges, qui peuvent être très complexes. Ces mélanges sont de nature et de volatilité très variées.

Ainsi, la séparation et l'identification des constituants volatils d'un extrait présentent bien moins d'alternatives que sa préparation. En effet, la CPG est la méthode de référence dans l'analyse des H.Es [62].

#### 1.7.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à l'olfactométrie (CPG/O)

Les H.Es obtenues renferment très souvent des centaines de composés volatils. Le couplage CPG/O combine la séparation des composés volatils par CPG avec l'évaluation olfactive [63].

#### 1.7.7.3. Chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions (CPG-2D)

Mondello *et al.*, [63], notent que la chromatographie bidimensionnelle consiste à coupler deux colonnes de polarités différentes pour avoir une séparation parfaite. Cette méthode est appliquée aux mélanges complexes présentant de nombreuses Co-élutions. Parmi les méthodes de chromatographie à deux dimensions, on distingue la méthode dite par piégeage « heart-cutting », notée CPG/CPG.

#### 1.7.7.4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une H.E reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique. La CG/MS est une méthode de détection très sensible, elle est devenue une méthode de choix pour l'analyse des mélanges aussi complexes que les H.Es.

Etant donné la gamme très diversifiée des concentrations des composés d'une essence, seule cette technique permet grâce à sa grande sensibilité (de l'ordre de  $\mu\text{g}$ ), de contribuer à la résolution de la plupart des problèmes des identifications rencontrées [64].

Une H.Es pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement végétale, contrairement aux essences synthétiques ou identiques naturelles, qui sont intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse [50].

Selon DE HOFFMANN et STROOBANT [64], La CPG est réalisée grâce à un appareil sophistiqué qui permet d'identifier à l'aide d'un graphique les molécules aromatiques présentes dans une H.E. Ainsi, on peut aller jusqu'à 450 molécules aromatiques. Ce graphique fourni, comporte une série de pics. Chaque pic représente une molécule aromatique bien spécifique qui est identifiée par un logiciel spécialisé (Figure 1.5).

La MS détermine la proportion relative qui est la composition élémentaire d'un échantillon et la structure des molécules organiques, inorganiques, et biologiques de chacune des molécules aromatiques d'une H.E à savoir la composition quantitative et qualitative.

L'échantillon dès qu'il est injecté au niveau de la CPG, à l'aide d'une seringue, rencontre un gaz vecteur (hélium ou azote), servant à le transporter depuis l'injecteur jusqu'au détecteur. A la fin, les différents constituants sont séparés en fonction de leur polarité ou de leur volatilité. Ensuite ils sont identifiés à l'aide de la MS [64].

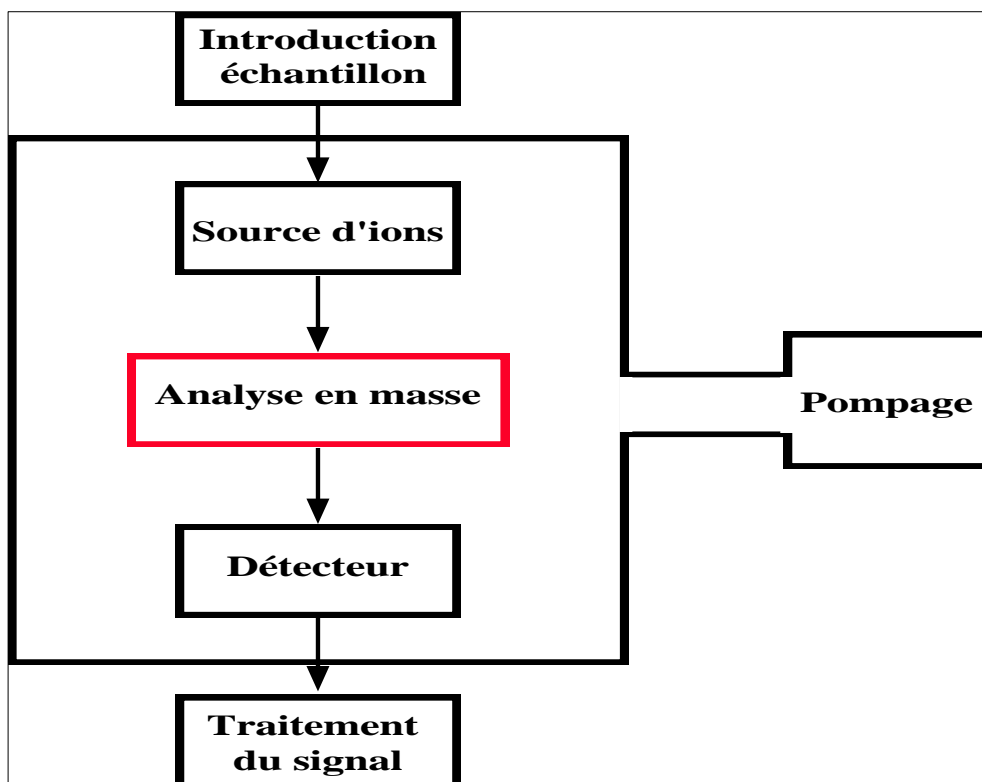


Figure 1.5 : Schéma de l'appareil de la CG/MS [64]

#### 1.8. Modes d'extraction des métabolites secondaires

Sur le plan historique, le développement des procédés d'extraction remonte à l'antiquité. Par exemple, les colorants ont toujours joué un rôle très important dans la vie de l'Homme. Des fragments de tissus teints à partir de garance, datés de plus de 3500 avant J.C, ont été découverts dans les ruines de certaines civilisations Indiennes et Egyptienne [13].

DIOSCORIDE PEDANIUS, médecin Grec au premier siècle de notre ère, avait écrit un ouvrage sur la matière médicale qui fut reproduit au Moyen âge par les arabes. Il a recherché les origines de la distillation. Ainsi, l'Egypte fut un berceau de cette technique. Par la suite, AVICENNE médecin et philosophe musulman fut l'un des premiers chercheurs qui a élaboré un procédé d'extraction des H.Es par entraînement à la vapeur d'eau au début du 15<sup>e</sup> siècle [65].

Au début du 16<sup>e</sup> siècle, PARACELSE, médecin Suisse père de la pharmacognosie étudia l'âme des végétaux sous forme de quintessence (5<sup>e</sup>

essence) à laquelle le nom d'esprit a été donné, puis il lui attribua le nom d'essence et finalement le nom d'H.E [41].

Plus tard au 18<sup>e</sup> siècle, commence l'utilisation des solvants d'origine pétrochimique pour extraire les matières naturelles. En 1870, l'extraction par solvant a été mise en œuvre comme un procédé industriel en Europe. Il est à noter que vers les années 1905 - 1910, le naphte et le gasoil commencent à être extraits. LIKENS et NICKERSON en 1964, inventent un procédé de distillation-extraction simultanée pour l'industrie de la bière. Leurs travaux ont constitué la base d'innombrables recherches afin d'améliorer la qualité des produits et réduire les temps d'extraction [16].

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des H.Es. Ainsi, le choix de la méthode dépend de la plante elle-même, de la partie du végétal à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de son usage aussi.

#### 1.8.1. Extraction par distillation

Il existe plusieurs procédés fondamentaux selon la texture et la fragilité de la matière première à traiter

##### 1.8.8.1. Hydrodistillation

Le protocole d'extraction consiste à immerger le matériel végétal à extraire directement dans un alambic rempli d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une plaque froide et l'H.E se sépare par différence de densité. Elle est réalisée généralement sous pression atmosphérique [16].

##### 1.8.8.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce procédé, la matière première à traiter n'est pas en contact direct avec l'eau. La vapeur d'eau fournie par une chaudière est injectée à travers la masse végétale disposée sur des plaques perforées. Sous l'action de la chaleur l'H.E est vaporisée pour former un mélange avec la vapeur d'eau. Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur où les composés volatils se séparent par décantation du distillat refroidi. Elle est pratiquée sous pression atmosphérique ou en

surpression modérée à 100 °C. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, évite certains phénomènes d'hydrolyse qui limite l'altération de l'H.E recueillie. Cette méthode apporte également l'avantage de raccourcir le temps du traitement et économiser l'énergie BRUNETON [16] et LUCCHESI [66].

#### 1.8.8.3. Distillation mixte

Il s'agit d'un processus de distillation double qui fusionne l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction, la matière végétale plongeant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. De ce fait il résulte que les deux phénomènes d'extraction se trouvent combinés [16].

#### 1.8.8.4. Hydrodiffusion

Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation d'un flux de vapeur descendant à très faible pression (0,02 - 0,15 bar), dispersé à travers la matière végétale [16, 66].

#### 1.8.2. Expression mécanique (à froid)

Cette méthode est réservée aux H.Es des fruits d'hespéridés (agrumes). Le principe de cette technique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Ainsi, l'H.E est séparée de la phase aqueuse par centrifugation après élimination des déchets solides [16].

#### 1.8.3. Extraction par solvants volatils

Cette technique d'extraction par solvant est très classique, elle consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques. Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation, car cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau.

Cette méthode d'extraction présente les inconvénients de la non sélectivité et de toxicité qui sont dues à la possibilité de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer ; ce qui impose une purification ultérieure.

Les solvants d'extraction doivent être de qualité agro-alimentaire, on recense : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane [66].

#### 1.8.4. Extraction par utilisation des corps gras (Enfleurage)

D'après BRUNETON [16], ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. L'extraction se fait soit par diffusion à froid vers le corps gras, ou par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu. IL s'agit de la digestion ou l'enfleurage à chaud.

#### 1.8.5. Extraction par CO<sub>2</sub> super critique

Grâce à la solubilité des constituants des H.Es dans le CO<sub>2</sub> et son état physique, ce dernier permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO<sub>2</sub> est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Ensuite, il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. L'H.E est alors dissoute dans le CO<sub>2</sub> sous forme de fluide. Ainsi, le CO<sub>2</sub> est rendu à l'état gazeux et se sépare du composé extrait dans un séparateur, avant d'être envoyé dans le liquéfacteur pour être réutilisé [67].

#### 1.8.6. Extraction par micro-onde

Ce procédé est basé sur l'absorption de l'énergie d'un rayonnement micro-onde par les composantes du matériel végétal sous pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte d'extraction. Cette absorption dépend de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal. A l'aide d'un chauffage instantané, l'eau constituant la matière végétale traitée rentre dans le processus d'extraction des essences.

Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et enfin la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité du temps, économie d'énergie et d'eau, et donne un extrait dépourvu de solvant résiduel [67].

### 1.8.7. Extraction simple

L'extraction simple consiste à mettre le végétale en contact direct ou indirect avec le solvant d'extraction.

#### 1.8.7.1. Lixiviation ou lessivage (leaching)

Lors cette opération, le solide est finement coupé. Ensuite, il est mis en contact avec un solvant d'extraction chaud ou froid, qui solubilise le soluté [60].

#### 1.8.7.2. Percolation

Le principe de cette méthode consiste à laisser couler un solvant, régulièrement chaud sur un lit de solide finement fractionné, dont le but est de dissoudre les composants solubles que contient le solide [60].

#### 1.8.7.3. Infusion

Le principe de cette technique consiste à mettre de l'eau bouillante en contact avec le végétal placé dans un récipient. On les laisse bouillir quelques secondes. Après, on couvre le récipient. Le temps d'infusion est variable selon l'indication, de 5 à 15 min en moyenne, c'est un mode d'extraction très simple et très facile à réaliser [60].

#### 1.8.7.4. Macération

C'est un processus d'extraction à température ambiante (15 à 20 °C). Le végétal est laissé tremper dans un solvant (eau, alcool, huile, miel ou bien vin). Le temps de macération dépend des propriétés intrinsèques de la préparation. La macération à l'eau ne doit pas se prolonger trop longtemps pour éviter tout risque de fermentation [17].

#### 1.8.7.5. Décoction

lors cette opération, le végétal est mis directement à bouillir dans le liquide d'extraction [17].

#### 1.8.7.6. Digestion

C'est une macération à chaud. Le végétal est maintenu en contact direct avec l'eau potable à une température inférieure à celle de l'ébullition mais supérieure à la température ambiante et ce pendant 5 h [17].

#### 1.8.7.7. Elution

Elle consiste à enlever un soluté fixé à la surface d'un solide par un simple contact avec un solvant, c'est une opération complémentaire à la fixation dans les opérations d'échange d'ions. Elle est fréquemment employée dans les méthodes d'analyse comme la chromatographie [60].

### 1.9. Différentes formes d'utilisation des métabolites secondaires

Selon CROUZET [67], l'extraction est un processus qui fait passer en solution, sous l'action d'un liquide (eau ou alcool), les substances actives d'une drogue. Il existe plusieurs formes, elle peut avoir lieu à froid ou à chaud suivant le mode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

#### 1.9.1. Extrait

Selon BRUNETON [16], l'extrait est une macération aqueuse ou alcoolique plus ou moins concentrée par évaporation. Ainsi, on peut avoir des extraits fluides, épais ou solides.

#### 1.9.2. Concrète

C'est un extrait à odeur caractéristique, obtenu par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux, d'une matière première fraîche d'origine végétale, après l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Dans la pratique courante on parle plus d'essence concrète ou, plus simplement d'essence [16].

#### 1.9.3. Pommade florale

Une pommade florale est un corps gras parfumé obtenu à partir des fleurs soit par « enflourage à froid », lors de la diffusion des constituants odorants des fleurs



dans le corps gras, soit par « enflourage à chaud », qui est une digestion ou immersion des fleurs dans le corps gras fondu [16].

#### 1.9.4. Résinoïde

C'est un extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Les résinoïdes sont généralement des essences produites par les conifères. Ils se transforment en résine après oxydation [16].

#### 1.9.5. Absolue

Il s'agit d'un produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante, après l'élimination des cires naturelles (substances saponifiables des acides gras). La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires. Aussi, l'éthanol est ensuite éliminé par distillation pour obtenir une absolue [16].

#### 1.9.6. Camphre ou stéaroptène

Après le refroidissement des H.Es, on obtient parfois des précipités appelés camphre ou stéaroptène, telle que le camphre de l'H.E de l'*Eucalyptus citriodora* [68].

#### 1.9.7. Elixir

L'élixir est un mélange d'alcoolat avec des suspensions sucrées qui donnent des sirops [68].

#### 1.9.8. Intrait

L'intrait est une substance obtenue par fixation des principes actifs de certaines plantes juste après leur cueillette par les vapeurs d'eau chaude [68].

#### 1.9.9. Huile essentielle

C'est une substance volatile obtenue à partir de la distillation des végétaux dans l'eau courante.

### 1.10. Potentialités biologiques des métabolites secondaires

Selon, KOKALIS-BURELLE et RODRÍGUEZ-KÁBANA [69], les plantes peuvent synthétiser de nombreuses substances chimiques qui sont des métabolites secondaires. Ces dernières interviennent dans les mécanismes de défense de la plante contre les agents phytopathogènes ainsi que les ravageurs.

D'autres part, REGNAULT-ROGER [45], signalent que ces composés secondaires possèdent des propriétés antivirales, bactéricides, fongicides, insecticides, herbicides et nématocides connues.

#### 1.10.1. Effets acaricides

Plusieurs plantes contiennent des composés inhibiteurs efficaces contre les acariens. Ainsi, KIM et *al.*, [70], ont mentionné que les H.Es de *C. citratus* et *Thymus vulgaris* L. à 6,4 µg/cm<sup>2</sup> entraînent une mortalité allant de 76 à 84 % de *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acarina : Acaridae) respectivement par rapport à ces deux acaricides à savoir le benzoate de benzyle et le N, N-diéthyl-m-toluamide (DEET). Ainsi, la mortalité avoisine les 80 % à la forte dose de 12,7 µg/cm<sup>2</sup>.

L'application directe de l'H.E de *F. vulgare* sur les adultes de *T. putrescentiae* entraîne une forte toxicité avec une DL<sub>50</sub> de 4,28 µg/cm<sup>2</sup> comparée aux acaricides chimiques. Cette action est attribuée essentiellement à la présence du carvone [71].

Les H.Es de : *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L. et *L. stoechas* L. (Lamiaceae) ont manifesté une activité acaricide contre *Tetranychus cinnabarinus* Boisd (Acarina : Tetranychidae) avec des doses létales DL<sub>50</sub> de : 0,53 - 0,69 et 2,92 µg/mL respectivement [72].

#### 1.10.2. Effets antioxydants

L'extrait éthanolique des parties aériennes de *Thymus capitatus* testé a montré un potentielle d'antioxydant élevé à la concentration de 80 g/mL, mais moins que l'acide ascorbique standard [73].

Aussi, les extraits organiques obtenus à partir de *D. carota* ssp. *carota* ont présenté une bonne activité antioxydante avec une concentration faibles [74].

Les extraits méthanoliques des feuilles de *T. numidicus* ont une importante capacité antioxydante avec une IC<sub>50</sub> de 11,06 ± 0,33 µg/mL par le test DPPH® et une IC<sub>50</sub> de 235,46 ± 2,14 µg TE (Trolox equivalents)/mg MVS par le dosage ABTS (monocation radicalaire préformée de l'acide 2,2'-azino-bis- (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Tandis que, les extraits méthanoliques des tiges ont présenté une IC<sub>50</sub> de 15,29 ± 0,9 µg/mL et une IC<sub>50</sub> de 233,75 ± 1,2 µg TE/mg MVS. En outre, les extraits ayant une capacité antioxydante supérieure présentaient également des teneurs en polyphénols plus élevées [75].

### 1.10.3. Effets bactéricides

La plupart des travaux réalisés dans ce domaine se sont concentrés sur les bactéries pathogènes des produits alimentaires. Cependant, l'efficacité des H.Es de *T. numidicus* et d'*Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. (Apiaceae) contre 5 souches de *Pseudomonas syringae* Van Hall, (Pseudomonadaceae) a été prouvée récemment [76].

Selon HAZZIT et al., [77], Les H.Es extraites à partir de *Thymus palleescens*, *Thymus algeriensis* et *Thymus dreatensis* ont prouvé une activité antimicrobienne considérable sur cinq bactéries.

Ces auteurs ont testé la sensibilité de trois Gram+ à savoir ; *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884 (Staphylococcaceae), *Bacillus cereus* Frankland et Frankland 1887 (Bacillaceae), *Listeria monocytogenes* (Listeriaceae) et deux Gram- tels que ; *Helicobacter pylori* (Marshall et al., 1985) Goodwin et al., 1989 et *Salmonella sp.* Lignieres, 1900 (Helicobacteraceae) et une levure ; *Candida albicans* Berkhout, 1923 (Saccharomycetaceae). Ainsi, une très bonne activité a été remarquée à l'égard des deux pathogènes, *C. albicans* et *H. pylori*.

De même, les activités antimicrobiennes des H.Es extraites à divers stades phénologiques à partir des parties aériennes de *Daucus crinitus* ont montré une très grande sensibilité de *C. albicans* et *S. aureus* [78].

#### 1.10.4. Effets fongicides

Un effet inhibiteur élevé de l'H.E de *T. capitatus* sur la croissance d'*Aspergillus niger* (van Tieghem, 1867), d'*Aspergillus oryzae* (E.Fisch.,1897) appartenant à la famille des Trichocomaceae de *Penicillium digitatum* Sacc, 1881 et de *Fusarium solani* Linck (1809) (Nectriaceae) a été observé à des concentrations comprises entre 0,1 et 0,5 µg/mL [73].

D'autre part, l'activité fongicide de *F. vulgare* et d'*Origanum syriacum* L. (Lamiaceae) s'est traduite par l'inhibition de la croissance mycélienne et la réduction du développement de l'infection due à *Sclerotinia sclerotinium* (Lib.) (Sclerotiniaceae) de 69 et 53,3 % respectivement [79].

Ces mêmes auteurs ont rapporté que l'élimination de *S. sclerotinium* révèle l'altération morphologique des hyphes. Ces modifications sont dues à l'effet des traitements et des réactions enzymatiques régulant leur synthèse.

Par ailleurs, DU PLOOY et *al.*, [80], ont révélé l'efficacité des H.Es de *M. spicata* et de *Lippia scaberrima* Trevor. (Verbenaceae) contre *P. digitatum*. Cette efficacité est exprimée par une diminution de l'incidence de la maladie sur les oranges, qui s'est manifestée par la bonne qualité et la diminution de la perte de l'humidité des fruits par rapport à ceux traités avec le fongicide chimique StaFresh.

Enfin, TABEL ZATLA et *al.*, [81], ont montré que les traitements de *Penicillium expansum* Linck (1809) et de *Botrytis cinerea* Pers. 1794 (sclérotiniacées) de fraises avec l'hydrolat et l'H.E des racines de *D. carota* ssp. *sativus* a présenté une activité protectrice et préventive très intéressante entre 89 et 100 % d'inhibition de la croissance mycélienne.

#### 1.10.5. Effets herbicides

Selon, ISMAN [82] et KOHLI et *al.*, [83], les constituants des plantes aromatiques peuvent être explorés pour la création de nouveaux herbicides. Des effets inhibiteurs aussi bien sur les mauvaises herbes que les plantes parasites ont été signalés, et ce par l'inhibition de la germination des graines, la croissance ou encore en affectant la photosynthèse.

Ainsi, l'H.E de l'*E. citriodora* a inhibé la germination à une concentration de 0,5 µL/mL. Néanmoins, la croissance, le contenu chlorophyllien et l'activité respiratoire de *Parthenium hysterophorus* L. (Asteraceae) ont été réduites de 56,57 et 68 % respectivement à une concentration plus faible de 2 µL/mL [84].

Par conséquent, les effets phytotoxiques des extraits organiques (acétate d'éthyle, éther de pétrole et méthanol) et aqueux des racines, des tiges et des feuilles de *T. numidicus* ont un effet très remarquable sur la germination des graines, la longueur des racines des hypocotyles et le poids sec des plantules des graines de *Medicago sativa* L. (Fabaceae) et de *Triticum aestivum* L. (Poaceae). Ainsi, l'inhibition de la croissance des plantules dépend directement de la concentration et du solvant d'extraction aussi [75].

#### 1.10.6. Effets insecticides

Les propriétés insecticides des plantes ont fait l'objet de nombreux travaux vis-à-vis des insectes appartenant à divers ordres. Selon REGNAULT-ROGER [45], l'activité insecticide se manifeste soit par inhalation, par contact ou encore par ingestion. Leur pouvoir anti-appétant retarde la croissance ou encore inhibe l'activité enzymatique.

COSIMI et al., [85], ont démontré l'activité insecticide des H.Es de *L. nobilis*, de *Citrus bergamia* Riss et Poit., de *F. vulgare* et de *Lavandula hybrida* L. vis-à-vis de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera : Curculionidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), (Coleoptera : Cucujidae) et *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera : Tenebrionidae).

L'H.E de *T. numidicus* a présenté une forte toxicité à l'égard de *R. dominica*, cette dernière a été attribuée à la présence d'une grande proportion de linalol et de thymol [86]. De même, une mortalité de 90 % de pucerons à partir de la dose 5,25 % de l'H.E de *T. satureoides* a été notée après 7 h du traitement seulement [87].

#### 1.10.7. Effets nématocides

Selon DJIAN-CAPORALINO et al., [88], plus de 200 plantes appartenant à 80 familles botaniques sont signalées pour leurs propriétés nématocides.

Une forte activité nématocide des extraits de l'H.E de *Thymus syriacus* Boiss. à des concentrations très faibles de 250 à 500 µL/L sur la mobilité des larves du 2<sup>e</sup> stade et l'inhibition de l'éclosion des œufs de *Meloidogyne arenaria* Chitwood, (1949) (Tylenchida : Heteroderidae) a été rapportée par SOLER-SERRATOSA et *al.*, [89].

Le potentiel nématocide des extraits éthanoliques, méthanoliques et de l'H.E de *Thymus zygis* (Loefl) L. a été démontré. En effet, *in vivo*, le pourcentage de mortalité le plus élevé est celui de l'H.E de *T. zygis* avec 69,7 % après 72 h à une concentration de 100 ppm. Ainsi, ces mêmes extraits ont montré une diminution des populations des *Meloidogyne* et de l'indice de galles aussi [90].

#### 1.10.8. Effets thérapeutiques

Un grand nombre d'H.Es a la capacité d'activer la circulation sanguine, de réduire les hémorroïdes et de soulager les jambes lourdes. Elles sont efficaces contre la cellulite, c'est le cas des H.Es de cyprès ; *Cupressus* L. (Cupressaceae), du Citron ; *Citrus* L., et de Sauge ; *Salvia* L. (Lamiaceae). Elles ont aussi le pouvoir de régénérer les tissus abîmés et de favoriser la cicatrisation des blessures telle que l'H.E de Lavande ; *Lavandula* L. [91].

Selon PATIL et *al.*, [92], des propriétés cicatrisantes importantes de l'extrait éthanolique des racines de *D. carota* chez les individus infectés par le virus de la peste bovine ont été signalées.

En outre, l'H.E de *T. vulgaris* à chémotype linalool a montré une activité anti-fatigue et anti-inflammatoire sur le cerveau des souris de laboratoire [93].

Les extraits de plantes peuvent avoir des effets inhibiteurs contre les virus, cette action se traduit principalement par l'induction de la résistance systémique contre la multiplication des virus notamment ceux transmis par les insectes.

Selon AGASSOUNON et *al.*, [94], les essais antiviraux des extraits éthanoliques de *Dialium guineense* Willd. (Caesalpiniaceae) et de *Uvaria chamae* L. (annonacées) à 500 µg/mL ont protégé les cellules VERO contre l'infection du virus *Herpès simplex* type 1.

# **CHAPITRE 2**

**GÉNÉRALITÉS SUR *DAUCUS CAROTA* L. SSP. *CAROTA***  
**ET *THYMUS NUMIDICUS* POIRET**

## CHAPITRE 2

### GÉNÉRALITÉS SUR *DAUCUS CAROTA* L. SSP. *CAROTA* ET *THYMUS NUMIDICUS* POIRET

#### 2.1. Propriétés des Apiaceae

La famille des Apiaceae comprend environ 300 à 455 genres et 3000 à 3750 espèces. En Algérie, elle est représentée par 55 genres, 130 espèces et 27 sous-espèces. Parmi les espèces à large distribution, on cite les *Daucus* qui présentent une distribution bipolaire, dans toutes les régions tempérées, mais la majorité d'entre elles habitent l'hémisphère Nord tempéré, d'autres comme la carotte sauvage sont cosmopolites [95].

Cette famille comprend généralement des herbes, parfois des arbustes annuelles, bisannuelles ou vivaces à tiges souvent cannelées et creuses par résorption de la moelle, certaines ont une racine tuberculeuse (carottes) ou même un véritable tubercule, certaines possèdent un rhizome (angéliques), ces feuilles, sont alternes, différemment composées ou découpées, rarement entières engainants au niveau des nœuds. Les inflorescences sont des ombelles simples ou le plus souvent composées d'ombelles, avec des fleurs blanches ou, plus rarement, jaunâtres, verdâtres ou rosées, toujours de dimensions réduites. En général, chez les actinomorphes et épigynes, les fleurs sont hermaphrodites homogénéité morphologique si remarquable grâce les rayons de leurs inflorescences disposés en ombelles. Le fruit est un schizocarpe contenant une graine [96].

Les Apiaceae possèdent un système de canaux sécréteurs schizogènes dans tous les organes libérant des monoterpènes, caractérisant l'odeur de la famille. Elle contient également des oléorésines et des alcaloïdes [97].

De nombreuses espèces économiquement importantes appartiennent à la famille des Apiaceae, certaines sont des plantes alimentaires (carotte, fenouil, céleri, etc.), d'autres sont des condiments utilisés depuis longtemps en cuisine à



cause des H.Es produites par leurs canaux sécréteurs (persil, coriandre, carvi, etc.) ; grâce à leurs propriétés digestives, elles sont très utilisées en phytothérapie [16, 98].

#### 2.1.1. Origine et répartition du genre *Daucus*

La Carotte est largement répandue dans le bassin méditerranéen mais aussi en Europe, en Asie occidentale et centrale, en Sibérie et en Afrique septentrionale. L'ancêtre sauvage de la carotte provient certainement de la région qui est aujourd'hui l'Afghanistan, où se situe son centre de diversification principal, au pied des montagnes de l'Himalaya et de l'Hindou Kush [99].

À l'état sauvage, la plante a une racine mince et aigre. Ce n'est qu'en la cultivant dans un climat modéré et dans une terre fertile que la racine grossit et s'adoucit pour donner une denrée comestible. Au mésolithique ; Il y a 9000 à 10000 ans, la carotte et le panais ne sont pas différenciés. Commence alors un long périple à travers les siècles qui amènera la carotte, au gré des explorations humaines, au Moyen-Orient, en Asie, en Afrique, ainsi qu'en Europe. Des traces de graines de carottes découvertes sur des sites préhistoriques suisses laissent supposer que la carotte est connue par l'Homme depuis des millénaires. Elle était probablement cultivée plus pour ses feuilles, qui dégageaient un arôme agréable [100].

Le nom *Daucus* vient du grec «*daukos* » dérivé de «*daio* » qui signifie j'échauffe en allusion aux propriétés des graines, *carota* signifie carotte [101].

*D. carota* est une plante bisannuelle des climats tempérés, indigène, commune en Europe, et en Asie occidentale. Elle se trouve également en Afrique du Nord, Algérie, Maroc, Tunisie. Ainsi, elle est localement en Afrique tropicale à la plus haute altitude ; elle s'est occasionnellement naturalisée en Afrique tropicale [17].

Elle est abondante des prairies ou elle prospère surtout dans les sols secs perméables, sablonneux ou humifères des prairies maigres, du littoral jusqu'à 1500 m d'altitude. On la trouve aussi dans des zones incultes. Son aire de répartition comprend les régions européennes, périméditerranéennes et se prolonge à l'Est jusqu'aux portes de l'Himalaya [102].

### 2.1.2. Taxonomie de *D. carota* ssp. *carota*

Selon CRONQUIST [103], l'espèce *D. carota* ssp *carota* est classée comme suit :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta (Angiospermes)
<b>Classe</b>	Magnoliopsida (Dicotylédone)
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Umbellales
<b>Famille</b>	Apiaceae
<b>Genre</b>	<i>Daucus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Daucus carota</i>
<b>Sous espèce</b>	<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>carota</i> .

### 2.1.3. Description botanique de *D. carota*

*D. carota* est une plante charnue de taille moyenne, de 40 à 80 cm au moment de la floraison. Elle a une racine grêle, pivotante, blanche, fusiforme, dure et tenace, acre, non comestible cassante, pigmentée, non ramifiée en sol meuble, sans obstacle [101].

Les tiges sont minces, souvent mates, avec un pourtour triangulaire. Elles sont très divisées-pennées, à divisions écartées très allongées, étroites, linéaires ou lancéolées-linéaires. Les feuilles sont minces, souvent mates, avec un pourtour triangulaire [95].

Les inflorescences sont constituées de grandes ombelles composées de fleurs blanches jaunâtres, allogames, protandres, regroupées en ombellule terminales et ou auxiliaires caractérisées par la présence d'une fleur pourpre centrale généralement stériles. Elle fleurit depuis le mois de juin jusqu'à la fin de l'été. Le fruit est une graine, diakène de forme elliptique et aplatis avec des aiguillons crochus. Lors de la maturation des fruits, les rayons de l'ombelle se referment en urne [102].

#### 2.1.4. Composition chimique de *D. carota*

La composition chimique des métabolites secondaires des sommités fleuries de *D. carota* se caractérise par variabilité remarquable des monoterpènes, des sesquiterpènes ainsi que des polyphénols, et ce selon l'origine géographique, le mode d'extraction, la partie de la plante utilisée ainsi que le stade phénologique de la plante [104-106].

#### 2.2. Propriétés des Lamiaceae

La famille des Lamiaceae, communément appelée Labiaceae ou Labieae comporte environ 2500 espèces végétales, très répandue dans la région méditerranéenne. En Algérie, cette famille est représentée par 28 genres [95].

Les Lamiaceae sont des plantes herbacées ou des sous-arbrisseaux, rarement ligneuses, souvent velues à tiges généralement quadrangulaires, à feuilles simples opposées, disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre (décussées), dépourvues de stipules, à limbe généralement denté.

L'inflorescence est de type fleurs en cymes, elles sont souvent réunies en faux-verticilles étagés, axillaires ou terminaux ; rarement en fleurs isolées. Les fleurs sont zygomorphes généralement hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaires. Le fruit est composé généralement de quatre akènes formés à partir de la division d'une fausse cloison des carpelles. Les végétaux appartenant à cette famille sont très riches en poils tecteurs et sécréteurs, sous la cuticule s'accumule des sécrétions, représentées par des H.Es [13].

Selon le même auteur, cette famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs H.Es, soit pour leurs usages condimentaire. Parmi ces espèces, on cite, les genres les plus importants tels que : *Mentha* (la menthe), *Lavandula* (la lavande), *Marrubium* (le marrube), *Ocimum* (le basilic), *Origanum* (l'origan), *Rosmarinus* (le romarin), *Salvia* (la sauge), *Satureja* (la sariette) et *Thymus* (le thym).

### 2.2.1. Origine et répartition du genre Thymus

Le thym est originaire du bassin méditerranéen, il pousse essentiellement dans les régions ensoleillées. Ce genre aime les sols secs, bien drainés et particulièrement rocailleux. Il a aussi la capacité de résister à de très fortes chaleurs. Dans le monde, il existe plusieurs espèces de ce genre à savoir *T. vulgaris*, *T. alpestris*, *T. x citriodorus*, *T. inodorus*. Au Maghreb, on dénombre plusieurs espèces à savoir *T. numidicus*, *T. pallescens*, et *T. ciliatus* [65, 95].

Selon QUEZEL et SANTA [95], le Thymus est parmi les plantes les plus répandues en Algérie. Grâce à ses diverses propriétés, cette espèce est très demandée dans de différents domaines ; culinaire, industriel, aromatique, cosmétique et pharmacologique.

En effet, ces dernières années ses H.Es ont attiré l'attention de nombreux chercheurs vus l'importance de leurs rendements et leurs intérêts thérapeutiques [13].

Le terme « Thym » est apparu dans la langue française au XIII<sup>e</sup> siècle, d'abord sous la forme de « Tym ». Selon certaines sources, il est dérivé du latin Thymus, qui l'a emprunté du Grec thumos, signifiant, de façon quelque peu obscure, « grosseur ou loupe » par référence à la glande, le Thymus. D'autres pensent plutôt que le mot vient du Grec thymos ou thyein, qui signifie « fumé » [13,17].

Tandis que certains auteurs notent qu'il dérive du mot du Grec Thymus qui signifie « courage ». Il semblerait que pendant longtemps, le thym est surtout employé en médecine et dans les rituels religieux ou magiques. Les égyptiens s'en servaient pour embaumer leurs morts, les grecs pour parfumer les temples et l'eau des bains et les romains pour purifier leurs appartements [13, 27, 95].

Les Romains ont probablement diffusé le thym en Europe durant leurs invasions, particulièrement dans les pays du Sud. Au Moyen Age, on s'en est beaucoup servi pour masquer les mauvaises odeurs, notamment celles de la viande ou du poisson avarié [13,17, 27, 95].

Il est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes, les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, l'hypertension et les gastrites, et en usage externe comme cicatrisants [17].

BUNNEY et *al.*, [21], confirment que cette plante possède des vertus antiseptiques, très utilisée pour soigner les infections pulmonaires, calmer les toux quinteuses, diminuer les sécrétions nasales et soulager les problèmes intestinaux.

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés et les plus importants de la famille des Lamiaceae dans le monde. Cependant environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se trouvent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela qu'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

C'est une plante très commune en Algérie, en Libye, au Maroc et en Tunisie à savoir le Nord-Ouest Africain. On rencontre également cette espèce sur les montagnes de l'Ethiopie et de l'Arabie du Sud-Ouest, la péninsule du Sinaï en Egypte, en Sibérie et même en Himalaya [21, 48].

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales en regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le genre *Thymus* comportent un nombre important d'espèces réparties dans les régions humides jusqu'aux régions arides, ce genre se trouve principalement dans le littoral [95, 98].

La distribution du *Thymus* est très diversifiée en Algérie, le tableau 2.1 montre la répartition géographique de différentes espèces de ce genre.

Tableau 2.1 : Répartition géographique de différentes espèces de *Thymus* [95]

<b>Espèces</b>	<b>Auteurs</b>	<b>Répartition géographique</b>	<b>Nom local</b>
<i>T. algeriensis</i> <i>T. zattarellus</i>	Boissier et Reuter	Endémique du Nord de l'Afrique. Très commun dans les régions montagneuses.	Djertil
<i>T. capitatus</i> <i>Satureja capitata</i>	(L.) Hoffm et Link	Très rare dans le secteur Oranais, le sous-secteur de l'Atlas Tellien (la région de Tlemcen).	Zaateur
<i>T. ciliatus</i>	Desfontaines	Endémique dans le secteur Nord-Algérois.	Djertil
<i>T. commutatus</i>	(Balansa) Battandier	Endémique du Sud Oranais et au Maroc. Très rare dans le sous-secteur de l'Atlas Saharien Constantinois (y compris les Aurès).	/
<i>T. dreatensis</i>	Battandier	Très rare dans le secteur du Tell Constantinois et dans la petite Kabylie, espèce endémique.	/
<i>T. fontanesii</i>	Boissier et Reuter	Commun dans le Tell. Endémique à l'Est (l'Algérie et la Tunisie).	Zaateur
<i>T. glandulosus</i>	Lag.	Très rare dans le sous-secteur des Hauts Plateaux Algérois et Oranais, et dans la région Ibéro-Mauritanienne.	/
<i>T. guyoni</i>	Noé	Endémique, rare dans le sous-secteur des hauts plateaux Algérois, Oranais et Constantinois, et dans le secteur du Sahara Septentrional.	/
<i>T. hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral, et dans la région Ibéro-Mauritanienne.	Djertil, hamrya
<i>T. lanceolatus</i>	Desfontaines	Endémique et rare dans le secteur de l'Atlas Tellien (Médéa) et dans le sous-secteur des Hauts Plateaux Algérois, Oranais (Tiaret) et Constantinois.	Zaateur
<i>T. munbyanus</i>	Boissier et Reuter	Endémique dans le secteur Nord-Algérois.	Djertil
<i>T. numidicus</i>	Poiret	Assez rare et endémique dans le sous-secteur de l'Atlas Tellien, la grande et la petite Kabylie, la Numidie (de Skikda à la frontière Tunisienne et le secteur du Tell Constantinois).	/
<i>T. pallidus</i>	Cosson	Très rare dans le sous-secteur de l'Atlas Saharien Constantinois. Endémique du Sud Marocain.	Tizerdit

### 2.2.2. Taxonomie de *T. numidicus*

Selon la taxonomie de QUEZEL et SANTA [95], le *T. numidicus* est classé comme suit :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous/embranchement</b>	Eutycolédones
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Tubiflorales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	Thymus
<b>Espèce</b>	<i>Thymus numidicus</i> Poiret

### 2.2.3. Description botanique de *T. numidicus*

Le *T. numidicus* est un petit arbrisseau grisâtre qui ne dépasse pas les 20 cm, reconnaissable par son port et par son parfum aussi. Ses feuilles sont très petites, réunies en épis au sommet, lancéolées de forme elliptique cotonneuses en dessous, d'un vert foncé. Elles sont en général lancéolées de forme elliptique. Les fleurs réunies en épi au sommet des branches. Elles ont un calice tubuleux se terminant par deux lobes roses sessiles ou presque pelouses. La période de floraison se situe entre le mois de mai et le mois de juin. Le fruit est formé de quatre akènes ronds, de couleur marron [16, 17, 95].

### 2.2.4. Composition chimique des extraits de *T. numidicus*

Les travaux phytochimiques effectués sur le *T. numidicus* ont permis l'isolement des acides phénoliques comme l'acide caféique, l'acide rosmarinique, des flavones tels que la lutéoline et l'apigénine, des tanins, ainsi que des H.Es qui contiennent des terpènes tels que le thymol et carvacrol [86, 107-109].

# **CHAPITRE 3**

**ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES EXTRAITS VÉGÉTAUX**



## CHAPITRE 3

### ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES EXTRAITS VÉGÉTAUX

#### 3.1. Activité insecticide

L'activité insecticide est définie comme étant le pouvoir toxique d'un produit chimique ou un agent biologique naturel, tel qu'un virus ou une bactérie pour détruire les insectes. En effet, les insecticides utilisés en protection des végétaux sont considérés comme des substances actives ou bien des préparations phytosanitaires contenant des matières ayant le pouvoir de tuer les bioagresseurs, leurs larves et/ou leurs œufs [110].

##### 3.1.1. La mineuse de la tomate *T. absoluta*

*T. absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) (Meyrick, 1917), est un microlépidoptère de très petite taille allant de 6 à 8 mm et environ 10 mm d'envergure, dont le corps est recouvert d'écaille, néotropical qui se nourrit aux dépens des Solanaceae. La larve de cet insecte creuse de grandes galeries dans les feuilles, dans les tiges, au niveau des bourgeons apicaux, et des fruits verts et mûrs, causant des pertes de rendements parfois jusqu'à 100 % [111, 112].

##### 3.1.2. Origine et répartition de *T. absoluta*

D'après VERCHER et *al.*, [113], ce ravageur est originaire de l'Amérique de Sud. Il a été signalé en 1964 en Argentine, puis en Bolivie, au Brésil, en Chili, et en Equateur. Par la suite, il s'est propagé vers d'autres pays de l'Amérique latine.

En mars 2007 de graves dégâts ont été observés sur tomate à Valencia en Espagne. En Italie, la première signalisation de cet insecte a été faite en 2008 sur la tomate cultivée sous serre. Cette espèce s'est propagée vers le Sud de la France en septembre de la même année. Ensuite, elle a été signalée dans d'autres pays de l'Est de l'Europe. En avril 2008, ce même ravageur a été signalé au Maroc. Après en 2009 a été signalé en Turquie, en Tunisie et en Lybie. [111, 112, 114].

En Algérie, *T. absoluta* a été signalée au printemps 2008 près de Mostaganem. Ce ravageur s'est étendu pour toucher plusieurs Wilayas de l'Est, dont on cite Tlemcen, Mostaganem, Oran, Chlef, Ain Defla et Tipaza, et d'autres Wilayas du Centre et de l'Ouest, il s'agit de Blida, Alger, Boumerdes, Tizi-Ouzou, Bejaia, Jijel, M'Sila, Mila, Skikda, et El Tarf. De même, il a pu atteindre le Sud comme Biskra et Ouargla. Actuellement ce ravageur est présent dans toutes les wilayas productrices de tomate [111].

### 3.1.3. Taxonomie de *T. absoluta*

*T. absoluta* a été nommée *Phthorimaea absoluta* par Meyrick en 1917. Plus tard elle a été également appelé *Gnorimoschema absoluta* (1962), *Scrobipalpula absoluta* (1964), *Scrobipalpuloides absoluta* (1987) et enfin elle a été placée dans le genre *Tuta* par POVOLNY en 1994 [115].

La *T. absoluta* est classée comme suit :

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Embranchement</b>	Arthropoda
<b>Classe</b>	Insecta
<b>Ordre</b>	Lepidoptera
<b>Sous-ordre</b>	Microlepidoptera
<b>Supère-famille</b>	Gelechioidea
<b>Famille</b>	Gelechiidae
<b>Sous-famille</b>	Gelechiinae
<b>Genre</b>	Tuta
<b>Espèce</b>	<i>Tuta absoluta</i> (Meyrick, 1917)

### 3.1.4. Description de *T. absoluta*

Les œufs sont petits, ils mesurent entre 0,22 mm de long et 0,36 mm de large, de forme cylindrique et de couleur blanc crémeux à jaune. L'éclosion des œufs prend 4 à 10 jours [111].

Le développement larvaire se divise en quatre stades. Les jeunes larves (L1) sont de couleur blanc-crème avec une tête de couleur noir de très petite taille entre

0,6 à 0,8 mm de long. Lorsqu'elles se développent en (L2) et (L3), leur couleur vire vers le vert. Tandis que durant leur dernier stade larvaire, les (L4) deviennent vertes et légèrement roses mesurant environ 7 à 8 mm de long pour 1,2 mm de large [116].

Les adultes mesurent environ 7 mm pour une envergure de 10 à 11 mm, de couleur gris cendré avec quelques taches noires sur les ailes antérieures. Ils possèdent des antennes filiformes presque aussi longues que leurs corps. Ils sont actifs toute la journée mais ils s'accouplent une fois par jour [117].

### 3.1.5. Cycle de développement de *T. absoluta*

*T. absoluta* est une espèce polyvoltine, qui fait son cycle parfois en moins d'un mois entre 29 et 38 jours. Selon les conditions climatiques, il peut y avoir de 10 à 12 générations par an [115, 116, 118].

Selon MAHDI [118], la durée du cycle de développement de ce ravageur varie selon les conditions climatiques, plus précisément ; la température. Il est de  $18,5 \pm 2,52$  jours à  $30 \pm 1$  °C, de  $32,9 \pm 4,22$  jours à  $21 \pm 1$  °C et de  $71,5 \pm 12,16$  jours à  $15 \pm 1$  °C.

La durée moyenne de l'embryogenèse est de  $4,1 \pm 1,1$  jours à  $30 \pm 1$  °C, de  $6,2 \pm 0,7$  jours à  $21 \pm 1$  °C et de  $12,1 \pm 2,4$  jours à  $15 \pm 1$  °C.

Tandis que le développement larvaire se fait en  $7,9 \pm 1,2$  jours à  $30 \pm 1$  °C, en  $13,3 \pm 1,2$  jours à  $21 \pm 1$  °C et en  $23 \pm 3,1$  jours à  $15 \pm 1$  °C.

La Nymphose de *T. absoluta* dure  $6,5 \pm 0,9$  jours à  $30 \pm 1$  °C -  $13,4 \pm 2,2$  jours à  $21 \pm 1$  °C et  $36,4 \pm 9,5$  jours à  $15 \pm 1$  °C.

D'après ces valeurs, le zéro de développement calculé est à  $9,77 \pm 0,06$  °C. Le nombre de générations potentielles inventoriées dans la région d'Alger est de 7,8 en 2010, 8,2 en 2011, 8,5 en 2012 et 7,83 générations dénombrées en 2013.

La femelle pond ses œufs sur la face supérieure des feuilles, mais aussi sur les tiges et les sépales, souvent isolés mais rarement en groupes de 3 à 5. Selon les conditions climatiques, chaque femelle pond environ 21 à 240 œufs [117].

D'après OUDARD [116], la pupation se fait dans le sol, sur les feuilles ou dans les galeries, ou encore sur d'autres parties de la plante. A peine formée, la pupe est de forme cylindrique et verdâtre puis devient progressivement marron. Elle peut être protégée par un cocon blanc et soyeux.

### 3.1.6. Plantes hôtes

La principale plante-hôte de *T. absoluta* est la tomate (*Solanum lycopersicum* L.), mais elle peut aussi s'attaquer aux différentes espèces de Solanaceae, telles que la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) l'aubergine (*Solanum melongena* L.) et sur plusieurs adventices comme la morelle noire (*Solanum nigrum* L.) et la stramoine (*Datura stramonium* L.) [100, 111].

La tomate est originaire des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et en Moyen Orient. Elle est cultivée partout dans le monde pour son fruit comestible. La tomate est l'une des cultures les plus importantes parmi les primeurs [119].

### 3.1.7. Taxonomie de la tomate

Selon QUEZEL et SANTA [95], la tomate est classée comme suit :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheophyta
<b>Embranchement</b>	Spermatophytes
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Solanales
<b>Famille</b>	Solanaceae
<b>Genre</b>	<i>Solanum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Solanum lycopersicum</i> L.

### 3.1.8. Description botanique de la tomate

Selon NAIKA et *al.*, [119], la tomate est une plante annuelle, qui peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres. La première cueillette peut avoir lieu à partir

de 45 à 55 jours après la floraison, ou 90 à 120 jours après le semis. La forme des fruits varie selon le cultivar, et la couleur varie du jaune au rouge.

Elle possède une forte racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices. La tige présente un port de croissance varié entre érigé et prostré, pleine, fortement poilue et glandulaire. Elle peut pousser jusqu'à une longueur de 2 à 4 m.

Les feuilles sont disposées en spirale, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs régulières, Bisexuées de couleur jaune vif.

Le fruit est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange.

Les graines sont nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, mesurant 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large.

Le feuillage et les fruits verts sont toxiques, car ils contiennent des alcaloïdes toxiques (tomatine, solanine). Ces derniers disparaissent des fruits au cours du mûrissement. Tandis que le fruit est riche en potassium, en antioxydants (lycopènes), en magnésium, en phosphore, en vitamines A-B-C et E, en fibres et en sels minéraux [120].

La large distribution ainsi que la grande production de la tomate lui attribue une très forte sensibilité aux différents bioagresseurs.

### 3.1.9. Dégâts causés par *T. absoluta* sur tomate

Les dégâts causés sur tomate par les différents larves de *T. absoluta* sont apparents sur les divers organes surtout les plus jeunes, car la larve après un premier stade baladeur peut pénétrer dans tous les organes, quel que soit le stade de la plante [116, 117].

Sur les feuilles, l'attaque est caractérisé par la présence de plages décolorées nettement visibles. Les larves dévorent seulement le parenchyme en laissant l'épiderme de la feuille. Par la suite, les folioles attaquées se nécrosent entièrement. Sur les tiges ou les pédoncules, la nutrition et l'activité des larves perturbent le développement des plantes.

Sur les fruits, les tomates présentent des nécroses sur le calice et des trous de sortie à la surface. Les fruits sont susceptibles d'être attaqués dès leur formation jusqu'à la maturité. Une larve peut provoquer des dégâts sur plusieurs fruits d'un même bouquet.

#### 3.1.10. Moyens de lutte contre *T. absoluta*

Selon ROYER [121], La première méthode de lutte mise en place en Amérique du Sud était le contrôle chimique. Les organophosphatés utilisés pour la gestion de *T. absoluta*, ont été remplacés par des pyréthroïdes dans les années 70. Néanmoins, l'utilisation d'un nombre limité d'insecticides n'apparaît pas comme une gestion durable de *T. absoluta* en Amérique du Sud. Cependant, l'emploi excessif des pesticides est à l'origine de l'élimination des ennemis naturels de la mineuse. L'efficacité des insecticides a graduellement diminué et des phénomènes de résistance ont été rapportés. D'autres méthodes de lutte ont été étudiées, notamment l'utilisation des contrôles biologiques tels que les pyréthroïdes, les thiocyclames et les Cartaps.

Les mesures de lutte prophylactique sont les plus appliquées traditionnellement par les agriculteurs, il y a aussi les méthodes de lutte physique telles que la désinfection du sol [117].

En Algérie, les différentes études menées portent sur un réajustement de la stratégie de lutte, tendant vers une lutte intégrée basée essentiellement sur les mesures prophylactiques et le développement des méthodes alternatives à la lutte chimique. Cependant les services du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la Pêche ont mis en place des stratégies de lutte contre ce ravageur, en s'appuyant essentiellement sur le piégeage massif par l'utilisation des pièges à phéromones. Cette technique a donné des résultats significatifs au

niveau national ce qui a permis de réduire considérablement les infestations causées par cet insecte [122].

A l'heure actuelle, les méthodes de lutte biologique par l'utilisation des ennemis naturels de ce ravageur prennent de l'ampleur. En effet, l'utilisation des insectes-proof donne de bons résultats et ce par la limitation de la colonisation des serres et des tunnels [123].

De plus, la lutte contre *T. absoluta* par la bactérie *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bacillaceae) est très efficace [124]. Ainsi, une préparation à base de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, 1883 (Clavicipitaceae) a montré une efficacité complète de contre les pupes [125].

les bioinsecticides tels que le spinetoram, le spinosad sont considérés comme un moyen de lutte très important contre les population de *T. absoluta* [126]. Notons aussi l'efficacité considérable de *Neem Azal T/S*® contre ce même ravageur des cultures sous abri [127].

En effet, les E.Vx de la citronnelle (*C. citratus*) et de l'ail ; *Alium sativum* L. (Liliaceae), ainsi que les H.Es de l'*Eucalyptus* sp., de la rue ; *Ruta graveolens* L. (Rutaceae), de l'anis (*P. anisum*) et du basilic (*O. basilicum*) ont réduit significativement la densité de population de *T. absoluta* [128].

### 3.2. Activité antimicrobienne

Le terme antimicrobien fait référence à un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer ou d'inhiber la croissance des micro-organismes du genre bactéries et champignons.

On distingue deux réactions à savoir ; une activité létale bactéricide ou fongicide et activité d'inhibition de la croissance dite activité bactériostatique ou fongistatique [60].

### 3.3. Activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [129].

Au cours de ces dernières années, un intérêt croissant pour la recherche d'antioxydants naturels comme les plantes herbacées et les épices qui sont réputées d'être efficace à cet égard. Rappelons aussi que les espèces appartenant à la famille des Apiaceae et des Lamiaceae possèdent des activités antioxydantes appréciables [130].

En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraînant ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans les produits finis [131].

#### 3.3.1. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres, en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, ils réagissent rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur.

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques, cas de dérivés du phénol. En plus de leurs radicaux intermédiaires, ils sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire [132].



### 3.3.2. Définition des radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène. L'appellation n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés d'oxygènes réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) [129, 133].

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques tels que l'inflammation, le cycle redox et d'autres facteurs afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophage, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle que la mort cellulaire programmée (apoptose) [133].

### 3.3.3. Stress oxydant

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire [134].

La conséquence des effets nocifs des radicaux libres et des métabolites réactifs est dite « stress oxydant ». Il s'agit d'un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers [135].

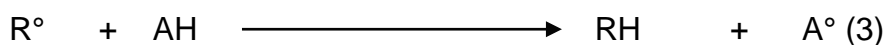
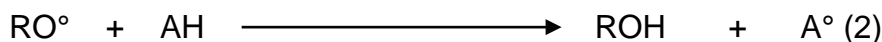
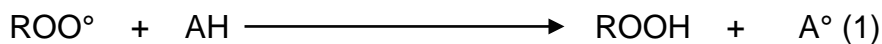
Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels et à des dégâts cellulaires irréversibles [135, 136].

### 3.3.4. Différents types d'antioxydants

On distingue plusieurs types d'antioxydants, on cite à titre d'exemple [137] :

#### 3.3.4.1. Antioxydants de type I

Il s'agit de substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un radical d'hydrogène (H<sup>•</sup>) à un radical libre lipidique présent.



**AH** : Antioxydant.

**A°** : Radical de l'antioxydant.

Les radicaux A qui se forment sont relativement stables et ne possèdent pas d'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides. De ce fait, ils subissent une réaction d'arrêt aboutissant à la formation de produits non radicalaires.

#### 3.3.4.2. Antioxydants de type II

Les antioxydants de cette catégorie sont les composés qui agissent en empêchant ou en diminuant la formation de radicaux libres. Les plus utilisés sont des agents complexant les ions métalliques réduisant l'effet pro-oxydant des ions, c'est le cas des acides phosphoriques, citriques et les ascorbates. Ils agissent en stabilisant la forme bivalente du métal dont l'action catalysante est plus faible que celle de la forme trivalent.

#### 3.3.4.3. Antioxydants de type III

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante, en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière. L'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions de l'oxydation et de prolonger la durée de vie des produits.

#### 3.3.4.4. Antioxydants synthétiques

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse autorisés dans l'industrie alimentaire on trouve : le BHT (E321), 2,6-bis (1,1-diméthyléthyl-4-méthylphénol et le BHA, (E320), 2-(1,1-diméthyléthyl)-4-méthoxyphénol qui ont une action synergique, mais ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évaporent rapidement. Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) qui a l'avantage d'être relativement

soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, peu résistant à la chaleur et constituer avec le fer des sels de couleur foncée. Le nitrite présente des propriétés antioxydantes, il peut aussi former des nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et les plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique [50].

# **CHAPITRE 4**

**MONOGRAPHIE DE LA ZONE D'ÉTUDE**

## CHAPITRE 4

### MONOGRAPHIE DE LA ZONE D'ÉTUDE

Le choix des deux plantes étudiées a été réalisé à partir des prélèvements de plants sains de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* dans la région d'Aith Laaziz appartenant à la wilaya de Bouira.

#### 4.1. Situation géographique

La région d'étude fait partie de la commune d'Aith Laaziz se situant au Nord de Bouira. Elle se trouve à 540 mètres d'altitude, entre [36° 26' 41"] de latitude nord et [3° 54' 31"] de latitude est. Ainsi, elle se situe dans le côté Nord-Centre de l'Algérie, à environ 135 km au Sud-Est de la wilaya d'Alger et au Sud de la chaîne du Djurdjura dans l'Atlas Tellien [138].

#### 4.2. Relief

La région forestière de la Kabylie est variée, on y trouve des terrains anciens, précambriens et cristallophylliens qui sont généralement sous forme de schistes, occupant de grandes étendues. Elle est caractérisée par 05 grands espaces géographiques qui sont représentés essentiellement par la dépression centrale, la terminaison orientale de l'Atlas Blidéen, le versant du Djurdjura, la chaîne des Bibans et les hauts reliefs du Sud et la dépression Sud Bibanique [139].

#### 4.3. Hydrographie

Le réseau hydrographique de la région d'étude est bien marqué. Elle est traversée par des bassins versants importants dont l'apport moyen annuel est de l'ordre de 561 millions de m<sup>3</sup>, constitué par le bassin versant d'Isser, le bassin versant Sahel Soummam, le bassin versant du Hodna et le bassin versant Humus. Ainsi que plusieurs barrages dont le barrage koudiet asserdoune, le barrage tilesdit, le barrage lakhal, ainsi que plusieurs retenus collinaires [139].

#### 4.4. Végétation

Par sa situation géographique et ses conditions climatiques favorables, la zone d'étude renferme un couvert végétal très diversifié constitué principalement d'essences forestières telles que le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège. Elle renferme aussi des zones agro-pastorales, des zones de plaines et beaucoup de terres fertiles à forte vocation agricole [138].

#### 4.5. Climat

Le climat joue un rôle fondamental dans la distribution et la vie des êtres vivants [140].

Les données climatiques utilisées ont été relevées dans la station météorologique de Bouira et fournies par l'Institut National des Sols, Irrigation et Drainage (INSID). Elles s'étalent sur une période de 24 ans, entre 1990 et 2014 (Figure 4.1).

##### 4.1.1. Précipitations

D'après SELTZER et *al.*, [140], ce facteur climatique est considéré comme très important pour caractériser le climat d'une région donnée.

L'évaluation des pluies dans la région de Bouira a été révélée sur 24 ans, la répartition des moyennes mensuelles des précipitations a été marquée par des mois arrosés. Il s'agit des mois de décembre, de janvier et de novembre, soit 72, 66 et 60 mm respectivement, ainsi que des mois secs représentés par le mois de juillet avec 5 mm de pluie seulement et le mois de juin avec 11 mm de pluie. La pluviométrie moyenne annuelle varie de 400 à 660 mm/an (Figure 4.1a).

##### 4.1.2. Températures

Les températures moyennes mensuelles maximales (M) ont été très élevées pendant les mois de juillet et d'août, ou elles avoisinent les 35 °C. Les températures moyennes mensuelles minimales (m) ont été relevées aux mois de janvier et de février avec 5 °C seulement (Figure 4.1b).

#### 4.1.3. Humidité relative

Vu sa position géographique, la zone d'étude reçoit une très grande quantité d'humidité. Le plus faible taux d'humidité a été relevé au mois de juillet avec 46 %, pour atteindre son maximum de 82 % au mois de décembre (Figure 4.1c).

#### 4.1.4. Insolation

L'insolation moyenne mensuelle la plus élevée a été enregistrée aux mois de juin et juillet (11 h/jr) et la plus faible au mois de décembre avec 5 h/jr seulement (Figure 4.1d).

#### 4.1.5. Vents

D'après la (Figure 4.1e), la vitesse moyenne maximale des vents a été notée au mois d'avril avec 3,3 m/s et la vitesse moyenne minimale au mois de novembre avec 2,5 m/s.

#### 4.1.6. Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gaussen

La saison sèche a duré environ cinq mois, elle s'est étalée du mois de juin jusqu'au mois d'octobre (Figure 4.1f).

#### 4.1.7. Quotient pluvio-thermique d'Emberger

D'après le quotient pluvio-thermique d'Emberger, la région de Bouira appartient au climat méditerranéen à l'étage bioclimatique semi-aride à hiver doux (Figure 4.2).

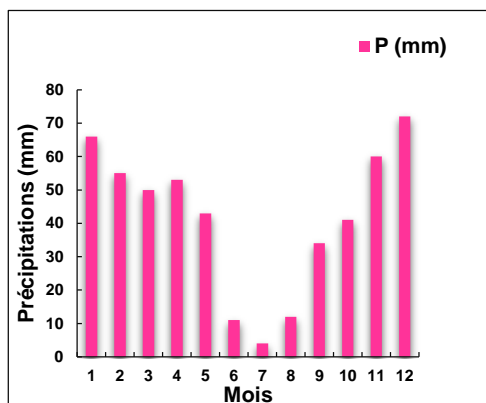


Figure 4.1a : Répartition des moyennes mensuelles des précipitations

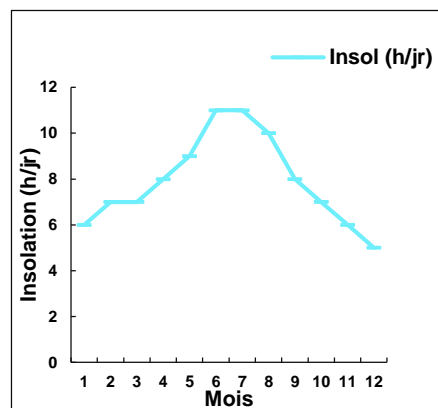


Figure 4.1d : Variations des moyennes mensuelles de l'insolation

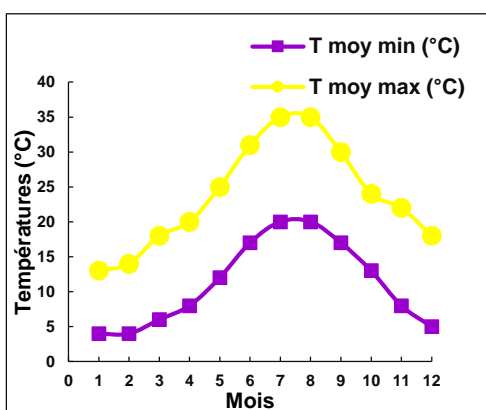


Figure 4.1b : Variations des moyennes mensuelles max et min des températures

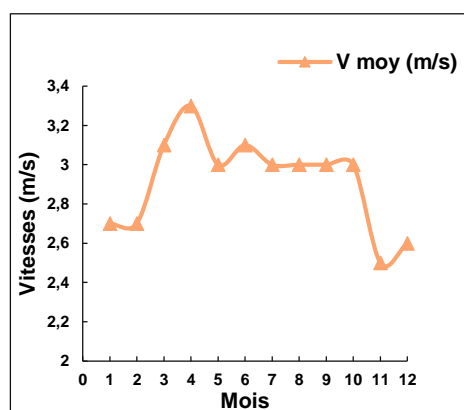


Figure 4.1e : Variations des moyennes mensuelles des vents

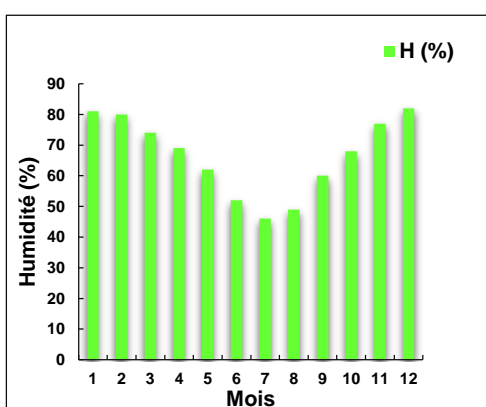


Figure 4.1c : Variations des moyennes mensuelles de l'humidité relative

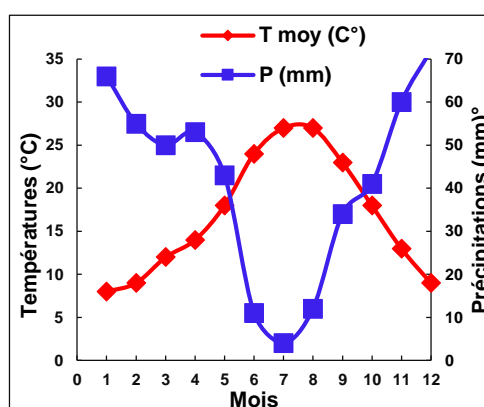


Figure 4.1f : Diagramme ombro-thermique de Bagnouls et Gausсен

Figure 4.1 : Variations climatiques dans la région de Bouira (1999-2014)



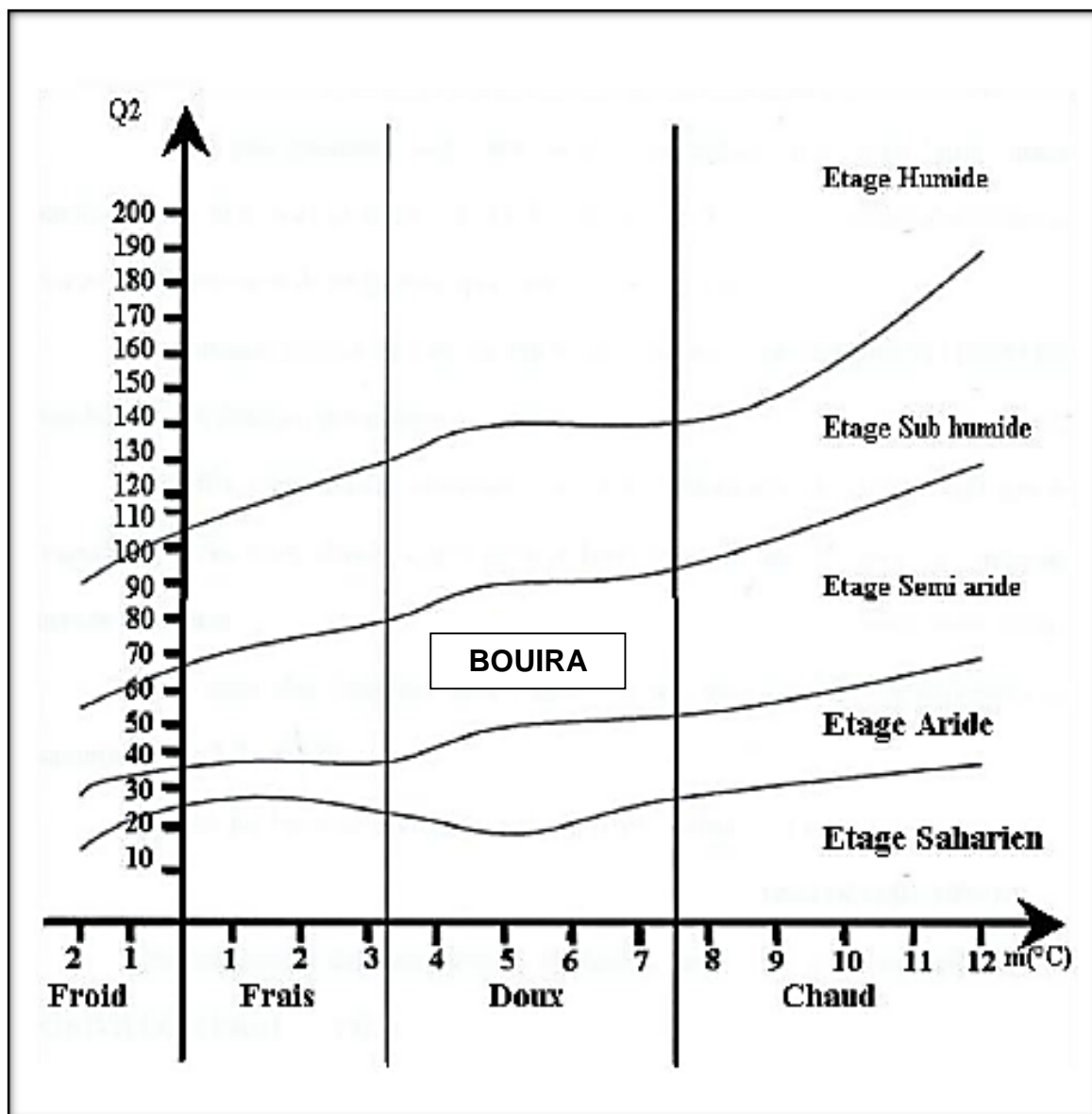


Figure 4.2 : Quotient pluvio-thermique d'Emberger de la région de Bouira (1990-2014)

# **CHAPITRE 5**

## **Matériel & Méthodes**

## CHAPITRE 5

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

On a consacré ce chapitre aux différents matériel et méthodes utilisés au cours de cette étude. On a traité essentiellement le matériel biologique tel que les parties aériennes de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* nécessaires à l'extraction des métabolites secondaires, les larves de *T. absoluta*, et les souches microbiennes pour la réalisation des bio-tests au laboratoire. Ainsi à ce niveau, le matériel non biologique a été représenté par la verrerie, les réactifs et les équipements pour les différentes analyses chromatographiques.

Les méthodes de travail suivies lors de cette expérimentation se reposent sur plusieurs critères à savoir ; l'échantillonnage du matériel biologique sur le terrain, les méthodes d'extraction et d'analyse des métabolites secondaires, et enfin les différents bio-essais au laboratoire.

L'objectif de cette étude consiste à extraire des principes actifs d'origine végétale à partir de deux plantes médicinales qui sont la *D. carota* ssp. *carota*, et le *T. numidicus*. Ces substances végétales ont été utilisées afin de tester leurs potentialités biologiques sur un ensemble d'organismes vivants à savoir sur la mortalité des différents stades larvaires de *T. absoluta* qui est considérée comme un ravageur essentiel de la tomate en Algérie, et sur des microorganismes pathogènes aux êtres vivants. A travers ce travail aussi, le pouvoir antioxydant des E.Vx obtenus a été déterminé aussi.

Ce travail a été complété par des études qualitatives et quantitatives telles que les tests phytochimiques, le rendement d'extraction en métabolites secondaires, le dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes et l'extraction des H.Es. On note aussi qu'une étude anatomique des parties des plantes utilisées pour déterminer les organes sécréteurs des H.Es a été réalisée. De même qu'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la

spectrométrie de masse « CG/MS » a été réalisée dans le but d'identifier les composés chimiques des H.Es extraites. Et pour caractériser les métabolites secondaires lourds une analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance « HPLC » des extraits des molécules lourdes a été accomplie aussi.

## 5.1. Matériel

Le matériel utilisé pour réaliser cette étude a été divisé en deux types : le matériel non biologique ainsi que le matériel biologique (Figure 5.1).

### 5.1.1. Matériel non biologique

Le matériel du laboratoire utilisé pendant cette expérimentation a été représenté par le petit matériel à savoir: la verrerie, ainsi que les équipements d'analyses (appendice B).

#### 5.1.1.1. Solvants d'extraction

Dans le but d'obtenir les E.M.Ls, on a procédé à l'extraction par des solvants organiques à polarité croissante. A ce niveau, il s'agit de l'hexane, de l'éther de pétrole, du butanol, du chloroforme, de l'acétate d'éthyle, du méthanol, de l'éthanol et de l'eau. Les caractéristiques de ces solvants utilisés sont renseignées dans le tableau 5.1 :

Tableau 5.1 : Différents solvants d'extraction des métabolites secondaires

Solvant	Polarité	Température d'ébullition (°C)	Température d'auto-inflammation (°C)	Densité (d <sup>20°C</sup> )
<b>Hexane</b>	Non polaire 0,1	68,7	225	0,660
<b>Ether de pétrole</b>	Non polaire 0,1	35-60	250	0,7
<b>Butanol</b>	Peu polaire 3,9	117,7	345	0,81
<b>Chloroforme</b>	Peu polaire 4,1	62	Ininflammable	1,489
<b>Acétate d'éthyle</b>	Peu polaire 4,4	77,1	427	0,900
<b>Méthanol</b>	Polaires 5,1	65	464	0,791
<b>Ethanol</b>	Polaires 5,2	78,5	360-420	0,789
<b>Eau</b>	Polaires 10,2	100	/	1

#### 5.1.1.2. Insecticides utilisés

Pour évaluer l'efficacité insecticide des E.Vx obtenus, on a jugé utile de comparer ces derniers à deux insecticides chimiques utilisés dans la lutte contre les populations de *T. absoluta*, à savoir : le Coragen® et le Voliam Targo®. Le choix de ces derniers a été justifié par leur disponibilité sur le marché ainsi qu'à leur large utilisation par les agriculteurs (appendice C).

#### 5.1.1.3. Milieus de cultures

Les différents milieux de culture utilisés lors de nos essais sont étalés dans l'appendice D.

### 5.1.2. Matériel biologique

#### 5.1.2.1. Matériel végétal

Dans le but d'obtenir des E.Vx à partir des ombelles florales (sommités fleuries) de *D. carota* ssp. *carota* (Figure 5.3a) et des feuilles de *T. numidicus* (Figures 5.1a, 5.1b), on a procédé à la cueillette de ces espèces au moment de la floraison printanière en mois de mai 2014 par un temps sec et ensoleillé, dans la région d'Aïth Laaziz appartenant à la wilaya de Bouira. L'identification botanique de ces deux espèces a été faite au niveau du Département de Botanique de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El Harrach-Alger.

Pour l'extraction des H.Es par hydrodistillation, on a utilisé le matériel végétal frais (MVF), tandis que pour l'obtention des extraits de molécules lourdes (E.M.Ls) on a procédé au séchage des plantes dans des endroits secs et bien aérés.

#### 5.1.2.2. Larves de *T. absoluta*

Pour les essais bio-insecticides au laboratoire, on a retenu comme exemple, les larves de la mineuse de la tomate « *T. absoluta* ». Ces larves ont été échantillonnées dans des cultures de tomate sous serres non traitées, dans deux zones côtières à climat méditerranéen, appartenant à l'étage subhumide à hiver frais, réputées par leur vocation agricole notamment le maraichage, il s'agit de Corso à Boumerdès et Heuraoua à Alger.

A partir des feuilles de tomate infestées, on a récupéré des larves de *T. absoluta* aux quatre stades de développement (Figures 5.1c, 5.1d, 5.1e). Ces larves ont été traitées par les insecticides chimiques et les bio-insecticides obtenus à différentes concentrations au niveau du Laboratoire de Biotechnologie Microbienne du Département de Biologie à la Faculté des Sciences de l'Université Boumerdès (LBMFSUB).

### 5.1.2.3. Souches microbiennes

Afin de tester les propriétés antimicrobiennes des E.Vx obtenus à partir des ombelles de *D. carota* ssp. *carota* et des feuilles de *T. numidicus*, on a utilisé des souches pathogènes pour les humains provenant de l'institut Pasteur d'Alger (IPA), ainsi que des souches phytopathogènes provenant de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV).

Ces tests ont été réalisés au niveau du Laboratoire de Microbiologie du Centre de Recherche et du Développement CRD-SAIDAL et le Laboratoire de Biotechnologie Microbienne du Département de Biologie à la Faculté des Sciences de l'Université Boumerdès (LBMFSUB). Les souches microbiennes testées sont renseignées dans le tableau 5.2 et l'appendice E.

Tableau 5.2 : Caractéristiques des souches microbiennes testées

Microorganismes	Morphologie	Germes testés
<b>Bactéries Gram-</b>	Bacilles	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 4157)
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)
		<i>Pseudomonas fluorescens</i> (ATCC 25923)
		<i>Pectobacterium carotovorum</i> (mycothèque INPV)
<b>Bactéries Gram+</b>	Bacilles	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 9372)
	Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)
<b>Levures</b>		<i>Candida albicans</i> (ATCC 24433)
		<i>Saccaromyces cerevisiae</i> (ATCC 2601)
<b>Moisissures</b>		<i>Aspergillus fumigatus</i> (ATCC 4609)
		<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 22342)
<b>Champignons</b>		<i>Fusarium sp.</i> (mycothèque INPV)
		<i>Rhizoctonia solani</i> (mycothèque INPV)



Figure 5.1a : Feuilles et fleurs de  
*T. numidicus*



Figure 5.1b : Sommités fleuries de  
*D. carota ssp. carota*



Figure 5.1c :  
Feuilles de tomates  
infestées



Figure 5.1d : Larves et  
adulte de *T. absoluta*



Figure 5.1e : Larves de  
*T. absoluta* sur tomate

Figure 5.1 : Matériel biologique (Originale : 2014-2015)

## 5.2. Méthodes

Dans le but de récupérer des E.Vx à partir des deux plantes étudiées, on a procédé à deux types d'extraction, à savoir l'hydrodistillation et l'entraînement par la vapeur d'eau pour l'obtention des extraits volatils tels que les H.Es et la macération en continu dans des solvants organiques et inorganiques pour l'acquisition des extraits des molécules lourdes (E.M.Ls). De même des caractérisations physico-chimiques des substances obtenues ont été réalisées aussi.

### 5.2.1. Extraction par solvant organique

Les E.M.Ls non volatils ont été obtenus par la macération du végétal dans les solvants d'extraction choisis pendant un temps précis approprié pour chaque solvant.

#### 5.2.1.1. Principe

La méthode qui a été adoptée pour ces essais est celle du SOXHLET préconisée par LEGER [141]. Cette méthode, permet l'extraction des composés organiques d'une matrice solide à l'aide d'un liquide, elle peut être utilisée pour des échantillons secs ou humides.

Le type de composé extrait dépend toujours de la nature du solvant utilisé ainsi que le type de l'extrait recherché. On obtient des infusions et des teintures si le solvant est conservé, des résinoïdes et des concrètes si le solvant est éliminé, des hydrolysats par extraction dans un mélange de solvant et d'eau et des alcoolats par extraction avec de l'alcool dilué.

L'extracteur SOXHLET est composé d'un corps en verre, une cartouche remplie de végétal, un tube siphon et un tube d'adduction (Figure 5.2).

#### 5.2.1.2. Mode opératoire

Sur un ballon rempli de solvant d'extraction, on a monté le dispositif SOXHLET contenant une cartouche en papier filtre épais chargée de MVS.



Ce montage a été relié à un réfrigérant et placé directement sous une source de chaleur qui est le chauffe-ballon pour assurer l'ébullition des solvants, en tenant compte que la température d'ébullition diffère d'un solvant à un autre. Lorsque le ballon se chauffe, les vapeurs du solvant traversent le tube adducteur, ensuite elles se condensent au niveau du réfrigérant et tombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer la MVS dans le solvant.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, provoquant ainsi le retour du liquide dans le ballon. A ce moment, le liquide est accompagné de plusieurs substances extraites et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles.

Les composés organiques demeurent dans le ballon où ils sont concentrés au cours des différents cycles. Le cycle peut se répéter indéfiniment, jusqu'à épuisement complet du solide, d'où l'efficacité remarquable de cette technique par rapport à la simple macération.

La séparation du solvant de l'extrait a été réalisée à l'aide d'un Rotavapor à raison de 70 tours/min (MO.C.SN.004).

Les extraits secs récupérés ont été dissous à 10 % dans le DMSO (diméthylsulfoxyde), après ils ont été stockés dans des vials en verre et fermés hermétiquement (MO.C.SN.004).

Il est à noter qu'on a pesé les ballons vides et les ballons pleins dans le but d'estimer le rendement d'extraction en métabolites secondaires.

### 5.2.2. Screening phytochimique (tests phytochimiques préliminaires)

Les tests phytochimiques ont été effectués pour caractériser la composition chimique et déterminer qualitativement les différents métabolites secondaires (familles chimiques) que contient une plante, ils ont été réalisés en utilisant principalement des réactions chimiques.

Les tests et résultats ont été classés selon des techniques utilisées et décrites par LA PHARMACOPEE RUSSE [142] et DOHOU et *al.*, [143].

Ces tests ont été effectués sur la poudre obtenue à partir de la MVS (broyat), ou bien sur l'infusé qui a été préparé selon cette méthode ; 100 mL d'eau distillée ont été portés à ébullition pendant 15 min, dans cette eau bouillante on a mis à infuser 20 g de poudre pendant 20 min, après on a filtré le mélange. A la fin, le filtrat a été ajusté à 100 mL avec de l'eau distillée.

Les préparations des solutions utilisées sont décrites dans l'appendice F.

L'expression des résultats se traduit par les symboles suivants :

- : Réaction nulle, absence totale de métabolites.
- + : Faible réaction, c'est-à-dire que la plante contient très peu de métabolites.
- ++ : Réaction moyenne, la plante est moyennement riche en métabolites.
- +++ : Forte réaction, la plante est très riche en métabolites.

#### 5.2.2.1. Recherche des alcaloïdes

5 g de poudre séchée et pulvérisée ont été humectés avec de l'ammoniaque  $\frac{1}{2}$  et un mélange de 50 mL éther/chloroforme (1/3). Après 24 h de macération, ce mélange a été filtré puis puisé par l'acide chlorhydrique 2 N. Apparition de réactions de précipitations dans la solution chlorhydrique.

La présence des alcaloïdes a été confirmée par l'addition du réactif de Dragendorff qui a indiqué l'apparition d'un précipité rouge.

#### 5.2.2.2. Recherche des anthocyanes

Dans 10 mL d'éthanol on a mis 1 g de poudre végétale. Ce mélange a été porté à ébullition pendant 10 min. Après la filtration, on a ajouté le zinc métallique et quelques gouttes de l'acide chlorhydrique. Une coloration rouge a été développée en présence des anthocyanes.

#### 5.2.2.3. Recherche des coumarines

2 g de poudre ont été mis dans 20 mL d'éthanol pendant 15 min à reflux. Après ce temps, le mélange a été filtré. A 5 mL de ce filtrat, on a ajouté 10 gouttes d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium à 10 % et quelques gouttes d'acide

chlorhydrique à 10 %. La présence des coumarines a été démontrée par la formation d'un trouble.

#### 5.2.2.4. Recherche des flavonoïdes

A 5 mL d'infusé, on a additionné 5 mL d'acide chlorhydrique, un copeau magnésium et 1 mL d'alcool iso-amylique. La mise en évidence des flavonoïdes a été révélée par l'apparition d'une coloration rouge orangé.

#### 5.2.2.5. Recherche des glucosides

Quelques gouttes d'acide sulfurique ont été ajoutées à 2 g de poudre. La présence des glucosides a été établie par la formation d'une coloration rouge brique qui vire par la suite vers le violet.

#### 5.2.2.6. Recherche des leuco anthocyanes

2 g de poudre ont été mis dans 20 mL d'un mélange de propanol/acide chlorhydrique. Après, ce mélange a été porté au bain marie bouillant pendant quelques minutes. La présence des leuco anthocyanes a été prouvée par le développement d'une coloration rouge.

#### 5.2.2.7. Recherche des quinones

On a recherché deux types de quinones de la manière suivante :

##### 5.2.2.7.1. Quinones libres

2 g de poudre ont été humectés avec 2 mL d'acide chlorhydrique. Ensuite ils ont été mis dans 20 mL de chloroforme. Après 3 h on a filtré ce mélange. Le filtrat obtenu a été agité avec 5 mL d'ammoniaque ½. La présence des quinones libres a été indiquée par l'apparition d'une coloration rouge.

##### 5.2.2.7.2. Quinones combinées

On a additionné 5 mL d'acide sulfurique 2 N à 2 g de poudre. Ce mélange a été porté à reflux pendant 2 h. La solution extractive a été filtrée puis épuisée par 20 mL de chloroforme, ce mélange chloroformique a été évaporé à sec puis épuisé

par l'ammoniaque  $\frac{1}{2}$ . La présence des quinones combinées a été justifiée par la présence d'une coloration rouge.

#### 5.2.2.8. Recherche des saponosides

Dans une fiole, on a introduit 5 mL d'acide chlorhydrique 0,1 N. Tandis que dans une autre fiole, on a mis 5 mL d'hydroxyde de sodium 0,1 N. A la fin on a ajouté dans chacune d'elle 2 à 3 mL d'infusé. En présence des saponosides, une mousse a été développée.

#### 5.2.2.9. Recherche des sénosides

On a introduit 2,5 g de poudre dans une fiole conique, à lesquelles on a ajouté 50 mL d'eau distillée et 2 mL d'acide chlorhydrique. Ce mélange a été chauffé dans un bain marie pendant 15 min.

Après le refroidissement du mélange, ce dernier a été agité avec 40 mL d'éther diéthylique, la couche étherée qui apparait après l'agitation a été séparée et séchée avec le sulfate de sodium anhydre puis a été évaporée à siccité. Au résidu refroidi on a rajouté 5 mL d'ammoniaque  $\frac{1}{2}$ , ensuite on a procédé au chauffage de cette solution au bain marie pendant 2 min. La présence des sénosides a été démontrée par l'apparition d'une coloration violette rouge.

#### 5.2.2.10. Recherche des stérols et triterpènes

1 g de poudre a été macéré dans 10 mL d'éther diéthylique pendant 24 h. Après filtration, le filtrat a été évaporé à sec au bain-marie. Ainsi, le résidu récupéré a été repris avec 0,5 mL d'acide acétique anhydre et 0,5 mL de chloroforme, auquel on a rajouté 3 mL d'acide sulfurique concentré.

Un anneau rouge-brunâtre ou violet a été formé au niveau de la zone de contact des deux liquides. La présence des stérols et triterpènes a été traduite par une coloration verte ou violette de la couche de la couche surnageante.

#### 5.2.2.11. Recherche des tanins

La présence des tanins a été mise en évidence par l'addition de quelques gouttes d'une solution de chlorure de fer à 5 % à 5 mL d'infusé. En présence des tanins une coloration bleu noir a été développée.

##### 5.2.2.11.1. Tanins catéchiques

15 mL d'infusé ont été additionnés à 7 mL de réactif de Stiasny. La présence des tanins catéchiques a été révélée par le développement d'une coloration rouge.

##### 5.2.2.11.2. Tanins galliques

A 5 mL d'infusé on a ajouté 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de chlorure de fer. La présence des tanins galliques a été démontrée par une formation d'une coloration bleu foncé.

#### 5.2.3. Dosage spectrophotométrique des E.M.Ls

D'après les résultats du screening phytochimique, on a procédé à la détermination des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les E.M.Ls des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* et les feuilles du *T. numidicus*.

##### 5.2.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été effectuée par spectrophotométrie UV-visible selon la méthode de Folin Ciocalteu [144, 145].

###### 5.2.3.1.1. Principe

Ce dosage a été basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans les extraits. Le réactif de Folin- Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides), un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ).

En milieu alcalin, ce réactif oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

#### 5.2.3.1.2. Mode opératoire

On a préparé une gamme d'étalonnage à différentes concentrations en acide gallique (20 - 40 - 60 - 80 - 100 - 120 - 140 - 160 - 180 et 200 µg/mL) dans un mélange de méthanol/eau à 6/4 (V/V), et ce afin de réaliser une courbe d'étalonnage.

A 300 µL de la solution standard de l'acide gallique à différentes concentrations, on a ajouté 1,5 mL du réactif Folin-Ciocalteu dilué au 1/10 et 1,2 mL de la solution de 7,5 % de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Après incubation pendant 90 min à l'obscurité et à 24 °C, l'absorbance a été lue contre le blanc à 760 nm.

Le blanc a été réalisé dans les mêmes conditions en substituant les 300 µL de la solution standard de l'acide gallique par 300 µL du mélange de solvants méthanol/eau à 6/4 (V/V). La même procédure a été appliquée pour chaque extrait de plante. Les polyphénols totaux ont été exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la MVS (mg Eq AG/g MVS).

#### 5.2.3.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux

La concentration en flavonoïdes a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), par spectrophotométrie UV-visible [145, 146].

##### 5.2.3.2.1. Principe

La coloration jaunâtre obtenue est due à la formation d'un complexe entre le  $\text{AlCl}_3$  et les atomes d'oxygène présent sur les  $\text{C}_4$  et  $\text{C}_5$  4 des flavonoïdes.

##### 5.2.3.2.2. Mode opératoire

Une gamme d'étalonnage a été préparée à différentes concentrations en quercétine (2,5 - 5 - 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 35 et 40 µg/mL) dans le méthanol afin de réaliser une courbe d'étalonnage.

Un mL de la solution standard de quercétine à différentes concentrations a été ajouté à 1 mL d'AlCl<sub>3</sub> méthanolique à 2 %. Le mélange a été vigoureusement agité. Après 15 min d'incubation à l'obscurité à 24 °C, l'absorbance du mélange a été déterminée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible.

Le blanc a été réalisé dans les mêmes conditions en substituant le 1 mL de la solution standard de quercétine par 1 mL de méthanol. La même procédure a été appliquée pour chaque extrait de plante.

Les flavonoïdes totaux sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de la MVS (mg Eq QE/g MVS).

#### 5.2.4. Analyse qualitative des E.M.Ls par la HPLC

Pour l'identification des polyphénols, on a utilisé une HPLC analytique de type HP 1100, géré par le logiciel CHEMSTATION qui est constituée :

- D'un système de dégazage.
- D'une pompe avec deux pistons fonctionnant en décalé, délivrant un débit stable et non pulsé et permettant d'avoir une ligne de base parfaitement rectiligne.
- D'un injecteur permettant d'injecter avec précision toujours le même volume de liquide (20 µL) dans la chaîne de la HPLC.
- D'une colonne qui se présente sous forme d'un tube en acier inoxydable résistant à des pressions de plus de 400 bars, rempli de résine, de longueur variant de 5 à 25 cm avec un diamètre intérieur compris généralement entre 2 et 5 mm. Ces colonnes sont remplies de la phase stationnaire, dont le diamètre des particules varie de 3 à 10 µm. Il existe plusieurs types de phases stationnaires, dont la phase inverse telle que C18 en gel de silice (octadécylsilyl : -Si-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>-CH<sub>3</sub>) et C8 (octylsilyl : -Si-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-CH<sub>3</sub>).
- D'un détecteur UV visible G1314A qui mesure l'absorbance de la substance à une longueur d'onde donnée.
- D'un détecteur de fluorescence FLD G1321A.

#### 5.2.4.1. Analyse des acides phénoliques et aglycones libres

Le solvant d'élution qui a été choisi est le plus couramment utilisé, il s'agit du méthanol, car il présente des forces d'élution plus spécifiques pour les aglycones, l'ajout de l'acide acétique en petite quantité a pour but de supprimer l'ionisation des composés phénoliques, apportant ainsi une bonne résolution et une bonne reproductibilité de lecture.

Selon CABRERA et *al.*, [147] et ROSTAGNO et *al.*, [148], les acides phénoliques et les aglycones flavoniques ont été analysés suivant le mode gradient d'élution aux deux longueurs d'ondes ( $\lambda = 260$  et  $\lambda = 365$  nm), dans les conditions opératoires suivantes :

- Régime gradient.
- colonne de dimensions : l = 25 cm,  $\varnothing = 4,6$  mm, la phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5  $\mu$ m) (C18).
- Phase mobile : la phase mobile A : (eau distillée : acide acétique) ; (98 : 2) et la phase mobile B : méthanol grade HPLC.

Le type de gradient est représenté dans le tableau 5.3.

Tableau 5.3 : Gradients des aglycones libres et des acides phénoliques

<b>Intervalle (min)</b>	<b>Phase mobile B (V/V)</b>	<b>Phase mobile A (V/V)</b>
0	5	95
30	70	30
40	70	30
44	5	95
+44	5	95

- Volume injecté : 10  $\mu$ L.
- Débit : 0,8 mL/min.
- Température de la colonne : 25 °C.
- Solvant de dilution : méthanol grade HPLC.
- Sensibilité du détecteur comprise entre 0,1 et 1.
- L'étalon acide phénolique utilisé est l'acide gallique.
- L'étalon aglycone utilisé est la quercétine.



#### 5.2.4.2. Analyse des hétérosides

Selon ROSTAGNO et *al.*, [148] et ZU. et *al.*, [149], les hétérosides ont été séparés en mode gradient d'élution à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de ces composés de  $\lambda = 380$  nm dans les conditions opératoires suivantes :

- Régime gradient.
- Colonne de dimensions :  $l = 25$  cm,  $\varnothing = 4,6$  mm, la phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R (5  $\mu$ m) (C18).
- Phase mobile : la phase mobile A : (eau distillée : acide acétique) ; (98 : 2) et la phase mobile B : (acétonitrile grade HPLC : eau : acide acétique) ; (79 : 19 : 2).

Le type de gradient est représenté dans le tableau 5.4.

Tableau 5.4 : Gradients des hétérosides

Intervalle (min)	Phase mobile B (V/V)	Phase mobile A (V/V)
0	12	88
20	17	83
30	22	78
45	37	63
60	40	60
65	70	30
68	70	30
73	12	88
+83	12	88

- Volume injecté : 10  $\mu$ L.
- Débit : 0,8 mL/min.
- Température de la colonne : 25 °C.
- Solvant de dilution : méthanol grade HPLC.
- Sensibilité du détecteur comprise entre 0,1 et 1.
- L'étalon hétéroside utilisé est la rutine hydrate (O-glycoside).

La présence de l'acide acétique dans les phases mobiles contribue à obtenir une meilleure résolution, la présence de l'eau peut réduire la force d'élution. Tandis

que l'acétonitrile est considéré comme un solvant très adéquat pour la séparation des glycosides sur colonne en phase inverse [150].

#### 5.2.5. Extraction des H.Es

Pour calculer le rendement d'extraction et déterminer la cinétique d'extraction de l'H.E par la méthode d'hydrodistillation, on a utilisé le dispositif de CLEAVENGER (1928) modifié selon la PHARMACOPEE EUROPEENNE [60]. Et pour l'obtention d'une bonne quantité d'H.E servant à la réalisation des activités biologiques et à la détermination des caractéristiques physico-chimiques des H.Es, on a utilisé un extracteur pilote de capacité de 100 L.

##### 5.2.5.1. Cinétique d'extraction des H.Es

###### 5.2.5.1.1. Principe

C'est l'évolution de la quantité de l'H.E extraite à partir d'une masse végétale donnée en fonction d'un temps bien précis. Le but de cette opération est d'optimiser le temps idéal de l'extraction des H.Es [60].

###### 5.2.5.1.2. Mode opératoire

On a procédé à l'extraction par hydrodistillation, 100 g de MVF ont été introduits dans un ballon à col rodé de 2 L, ce ballon a été rempli d'eau jusqu'à 2/3 de son volume.

Ensuite il a été relié directement à un réfrigérant et porté à ébullition sur un chauffe-ballon pendant 180 min découpée sur plusieurs intervalles de temps (Figure 5.3) (MO.C.SN.001).

Après l'ébullition de l'eau, les vapeurs d'eau dégagées, entraînent les constituants volatils qui deviennent chargées en H.E, elles passent dans le réfrigérant où la température est inférieure à 20 °C. A ce moment-là, elles rencontrent un courant froid qui les condensent et les liquéfient en gouttelettes pour constituer le distillat.

On a commencé à compter le temps de la cinétique, juste au moment de l'apparition de la première goutte de distillat, comme c'est indiqué dans le tableau 5.5.

Tableau 5.5 : Cinétique d'extraction des H.Es

N° de l'erien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Temps (min)</b>	0 5	5 5	10 5	15 5	30 15	45 15	60 15	90 30	120 30	150 30	180 30	240 60

Ce tableau montre l'évolution de la quantité de l'H.E en fonction des différentes fractions du temps.

A la fin de l'extraction, le distillat qui a été récupéré dans des erlens, il a été transvasé dans des ampoules à décanter et mélangé avec l'éther diéthylique pour récupérer les H.Es obtenues à différents intervalles de temps.

Après un temps de repos de 30 min, on a remarqué l'apparition de deux phases distinctes non miscibles, l'une étant aqueuse et plus dense occupe la partie inférieure. Tandis que l'autre est moins dense et de nature organique occupe la partie supérieure, elle est constituée d'H.E dissoute dans l'éther diéthylique. Dans le cas où la séparation de ces deux phases n'est pas claire on ajoute à l'aide d'une spatule, une petite quantité de NaCl.

Pour une bonne décantation, la phase inférieure a été éliminée, et la phase supérieure, a été laissée reposer dans l'ampoule à décanter. Puis elle a été passée sur un papier filtre contenant du sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) pour piéger les molécules d'eau qui pouvaient être présentes dans cette phase.

Ensuite, cette phase huileuse a été récupérée dans des tubes à essai vides préalablement pesés, ces derniers ont été laissés à l'air libre permettant ainsi l'évaporation totale de l'éther diéthylique. Après l'évaporation totale du solvant, les tubes pleins contenant l'H.E ont été pesés à nouveau, la différence du poids entre les tubes pleins et les tubes vides constitue la masse de l'H.E récupérée.

### 5.2.5.2. Extraction à l'échelle pilote

#### 5.2.5.2.1. Principe

Afin d'obtenir une quantité considérable d'H.E, on a utilisé l'extracteur pilote. C'est un grand appareil de distillation composé d'un alambic d'une capacité de 100 L, d'un panier, d'un condenseur, d'un système de cohobage, d'un essencier et d'un tableau de commande pour le contrôle et le réglage des paramètres opératoires (Figure 5.4).

#### 5.2.5.2.2. Mode opératoire

L'extraction des H.Es a été réalisée selon un protocole adopté par le Laboratoire des Substances Naturelles du CRD-SAIDAL-EL-Harrach (MO.C.SN.006) et (MU.C.SN.001).

Pour commencer l'extraction, l'alambic a été rempli d'eau à 2/3 de sa capacité et le panier a été chargé de 15 kg de MVF. Par la suite, l'alambic a été fermé et mis en marche tout en fixant le débit d'eau dans le condenseur.

Au moment où la température d'eau atteint les 100 °C, les vapeurs chargées d'H.E passent dans le condenseur et le distillat se concentre dans l'essencier. Ainsi, le niveau du mélange eau-H.E (distillat) augmente progressivement.

A la fin, on a arrêté l'extraction après 1 h et 30 min de l'apparition des premières gouttes du distillat dans l'essencier.

### 5.2.5.3. Décantation

#### 5.2.5.3.1. Principe

La séparation des deux phases aqueuse et huileuse a été faite par décantation, l'H.E de faible densité remonte en haut, et l'hydrolat reste en bas [151] et MO.C.SN.003.

#### 5.2.5.3.2. Mode opératoire

Le distillat a été mis dans une ampoule à décanter, après un temps de repos de 60 min, l'H.E s'est concentrée en haut et l'hydrolat en bas (Figure 5.5).

Après l'élimination de la phase aqueuse, l'H.E a été stockée au laboratoire d'analyse, dans des vials en verre opaques, hermétiquement fermés et tenus à 4 °C à l'abri de la lumière pour éviter toute dégradation. L'H.E obtenue à l'aide de l'extracteur pilote, est une huile bio exempte de solvant organique (MO.C.SN.004).

#### 5.2.6. Détermination du taux d'humidité dans la MV

Le taux d'humidité est la teneur en eau dans la MV, elle est l'un des plus importants indices qui caractérise la bonne qualité de celle-ci. Il a été calculé afin d'obtenir la vraie masse de la MV utilisée pour estimer le rendement en substances extractibles.

##### 5.2.6.1. Principe

Le taux d'humidité a été obtenu grâce à l'appareil de DEAN et STARCK, qui est une pièce en verre constituée d'un tube de condensation cylindrique et vertical, un tube collecteur gradué à 0,1 mL se terminant par un robinet et un tube de raccordement pour le relier à un ballon en verre [60].

##### 5.2.6.2. Mode opératoire

Un ballon de 500 mL accolé par un réfrigérant a été remplie avec un mélange de 10 g de MV et de 200 mL de toluène. Ce dernier a été placé directement sur le tube cylindrique et mis sur un chauffe-ballon (Figure 5.6).

Au cours de la réaction, des vapeurs contenant le toluène et l'eau montent jusqu'au condenseur et, une fois liquéfiées, elles tombent dans le cylindre gradué. A l'intérieur de celui-ci les deux liquides non-miscibles, il s'agit de l'eau et du toluène.

Lorsque la phase supérieure, le toluène qui est moins dense atteint le niveau du bras, il coule dans celui-ci et retourne dans le ballon réacteur. Ainsi l'eau s'accumule de plus en plus dans le tube gradué (MO.C.SN.005).

Au moment où le niveau d'eau reste constant et le solvant surnageant l'eau dans le récipient devient limpide, l'opération est ainsi terminée. Après le refroidissement du mélange, le volume d'eau est noté et le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H (\%) = \left( \frac{V}{m} \right) \times 0,998 \times 100$$

- **H %** : Le taux d'humidité (%).
- **V** : Le volume d'eau (mL).
- **m** : La masse du matériel végétal (g).
- **0,998** : La densité d'eau.

#### 5.2.7. Détermination du rendement en métabolites secondaires

Le rendement en métabolites secondaires (R en %) d'une plante est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de la MVS, il a été calculé selon la méthode suivante (MO.C.LA.011) :

$$R_E (\%) = \left( \frac{m_E}{m_{MVS}} \right) \times 100$$

- **R<sub>E</sub> %** : Le rendement en extrait (%).
- **m<sub>E</sub>** : La masse de l'extrait (g).
- **m<sub>MVS</sub>** : La masse de la matière végétale sèche (g).

$$m_{MVS} = m_{MVF} \times (1 - H)$$

- **m<sub>MVS</sub>** : La masse de la matière végétale sèche (g).
- **m<sub>MVF</sub>** : La masse de la matière végétale fraîche (g).
- **H** : Le taux d'humidité (%).

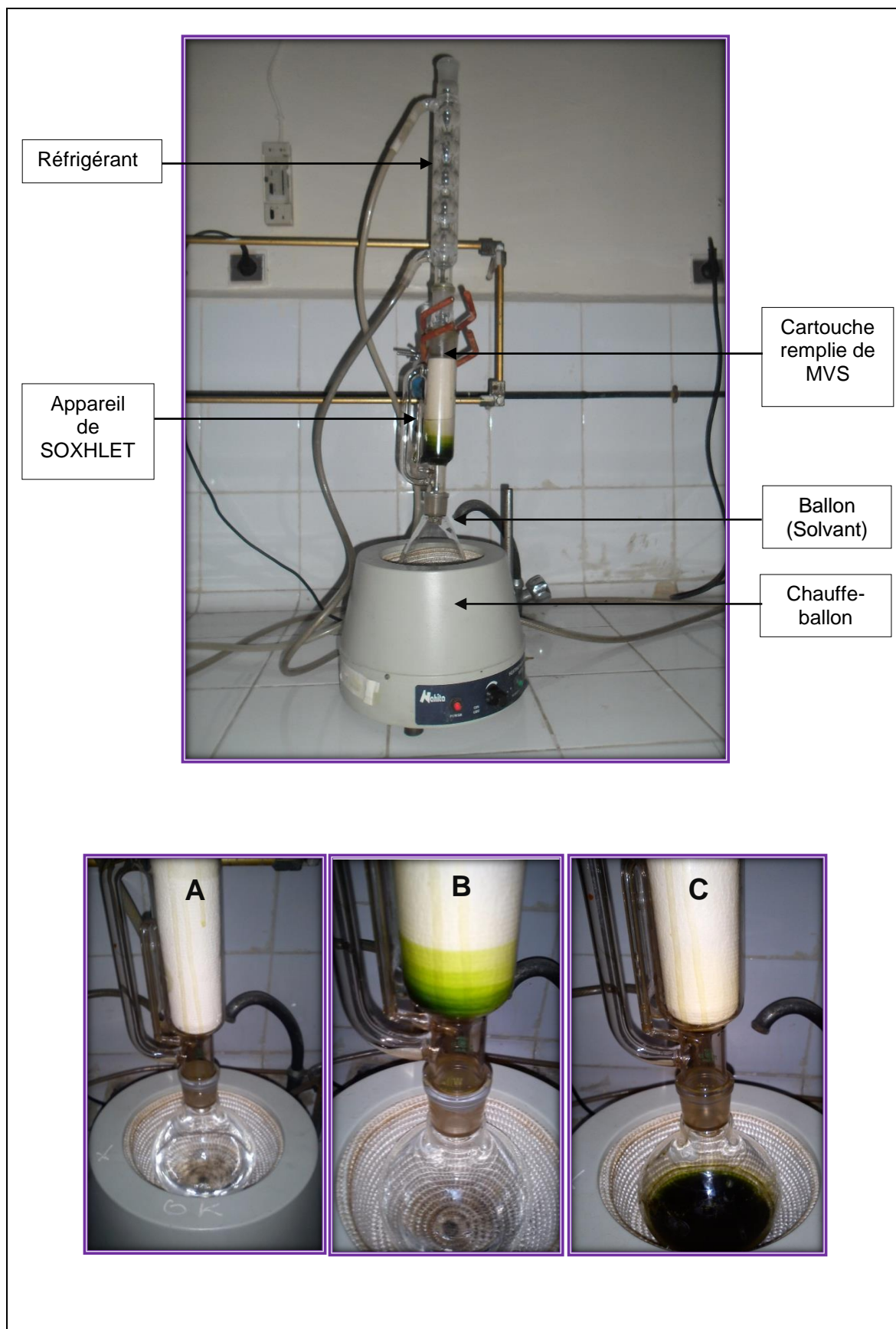


Figure 5.2 : Dispositif de SOXHLET (CRD-SAIDAL, Originale : 2014)

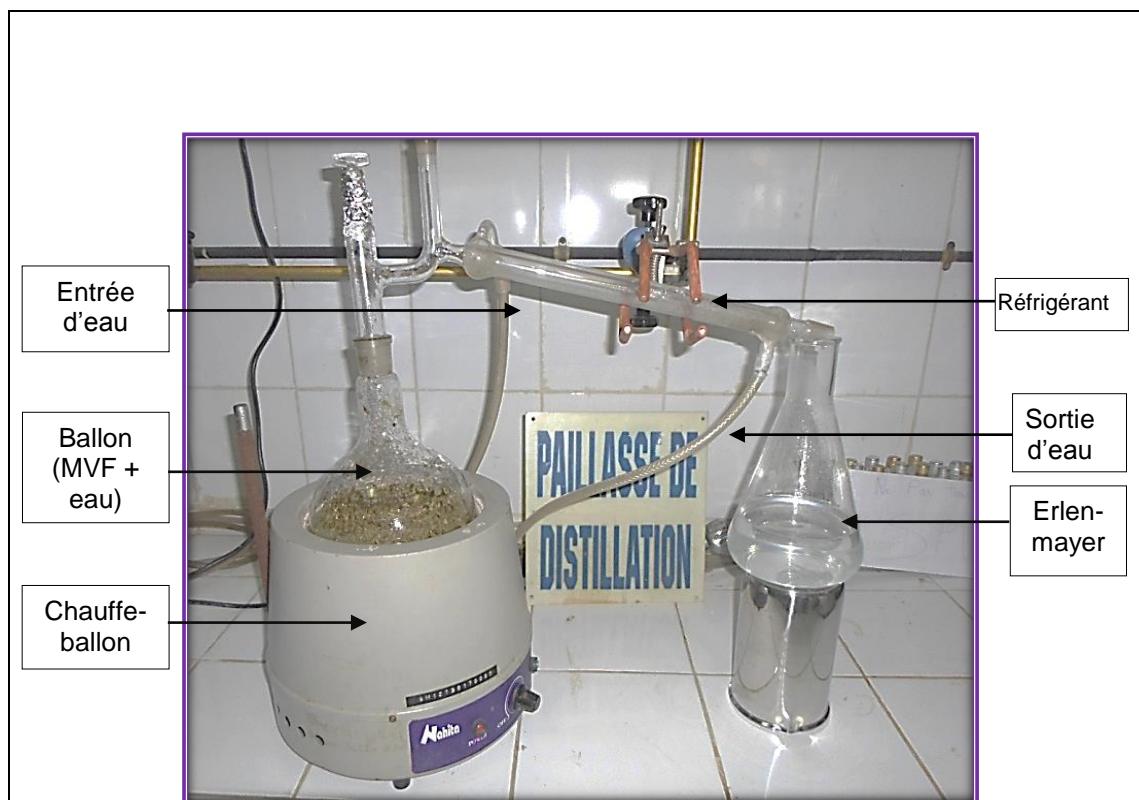


Figure 5.3 : Cinétique d'extraction des H.Es  
(CRD-SAIDAL, Originale : 2014)



Figure 5.4 : Extracteur pilote (CRD-SAIDAL, Originale : 2014)



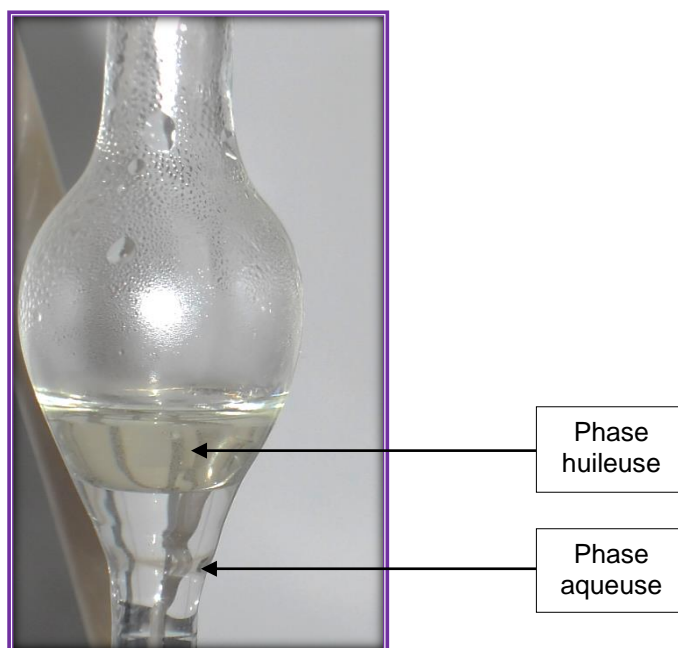


Figure 5.5 : Décantation des H.Es (CRD-SAIDAL, Originale : 2014)

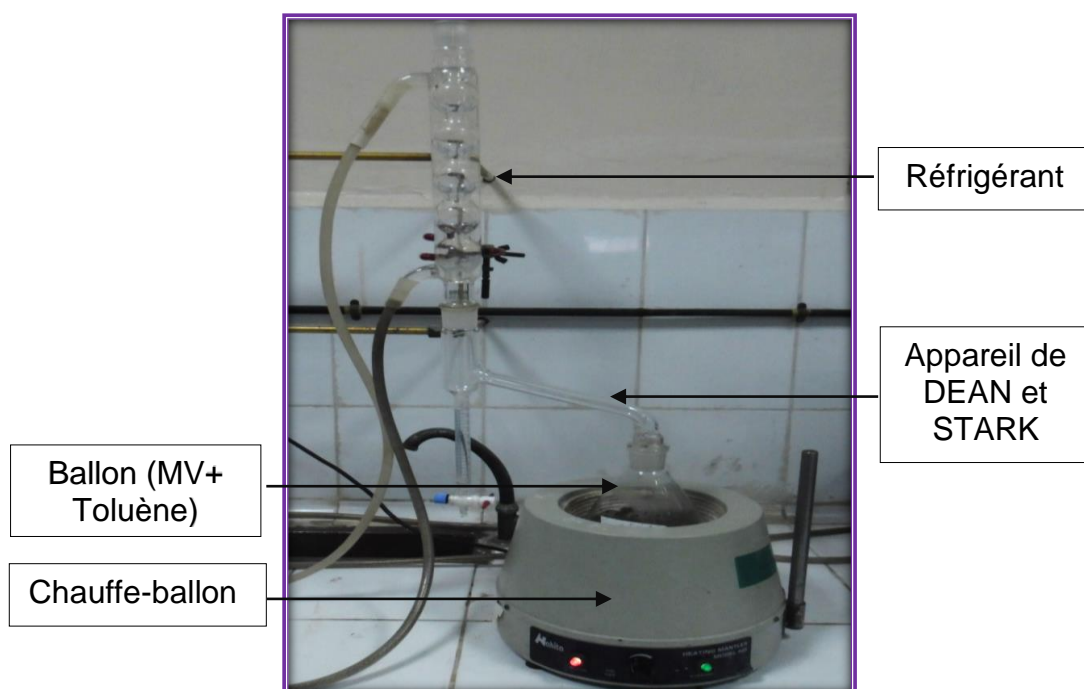


Figure 5.6 : Appareil de DEAN et STARCK (CRD-SAIDAL, Originale : 2014)

### 5.2.8. Caractéristiques physico-chimiques des H.Es

Les caractéristiques physico-chimiques des H.Es constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de celles-ci. Elles consistent à examiner les propriétés organoleptiques des H.Es et à déterminer ses indices physico-chimiques par des méthodes décrites dans la PHARMACOPEE EUROPEENNE obéissant à des normes édictées par L'ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION (ISO), L'ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION (AFNOR) et ESSENTIAL OILS ASSOCIATION (EOS).

Cependant, ces paramètres demeurent insuffisants pour caractériser une H.E sans la détermination des constituants chimiques. Ces derniers évaluent la qualité des fonctions chimiques à savoir les acides, les esters, et les alcools.

D'après KARLESKIND [152], une H.E qui se caractérise par un indice d'ester élevé ne se conserve pas pendant une longue durée. Ainsi la densité est un critère de pureté qui est liée étroitement à la composition chimique.

Les paramètres considérés dans cette étude sont l'aspect physique, la couleur, l'odeur, la densité relative à 20 °C (D), l'indice de réfraction à 20 °C ( $\eta^{20}_D$ ), le pouvoir rotatoire à 20 °C  $[\alpha]_D^{20}$ , l'indice d'acide (IA), l'indice d'ester (IE) et l'indice de saponification (IS). Tous ces paramètres ont été calculés selon les méthodes décrites par [60, 42].

#### 5.2.8.1. Propriétés organoleptiques des H.Es

##### 5.2.8.1.1. Aspect physique

De même, l'aspect d'une essence végétale change selon les produits qui la constituent. Elle peut apparaître sous différentes formes : solide, liquide ou solide-liquide.

##### 5.2.8.1.2. Couleur

La coloration d'une H.E dépend des constituants qui la composent.

### 5.2.8.1.3. Odeur

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habilité des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parvient à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'à dix millièmes de g/L d'air.

### 5.2.8.2. Mesure des indices chimiques

#### 5.2.8.2.1. Détermination de l'indice d'acide (IA)

L'indice d'acide (IA) est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'H.E.

▪ Pincipe : les acides libres ont été neutralisés par une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium.

▪ Mode opératoire : on a introduit 2 g d'H.E dans un ballon de 100 mL, à lesquelles on a ajouté 5 mL du méthanol neutralisés et 5 gouttes maximum de solution de phénolphthaléine comme indicateur coloré.

On a titré ce mélange par une solution d'hydroxyde de potassium (KOH à 0,1 M/L) contenue dans la burette, puis on a versé goutte à goutte jusqu'à l'apparition d'un virage persistant de la couleur rouge-rose de la solution titrée.

L'indice d'acide (**IA**) a été calculé par la formule :

$$IA = \frac{V_{KOH} \times 5,611}{m}$$

- **M** : La masse en gramme de la prise d'essai (2 g d'H.E).
- **5,611** : L'équivalent gramme de KOH  $\times C_{KOH}$  (= 0,1 M).
- **V<sub>KOH</sub>** : Le volume de KOH à 0,1 M/L utilisé (mL).

#### 5.2.8.2.2. Détermination de l'indice d'ester (IE)

L'indice d'ester (IE) est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1 g d'H.E.

▪ Principe : l'hydrolyse des esters présents dans l'H.E a été faite par chauffage, en présence d'une solution éthanolique titrée de KOH et le dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique (HCl).

▪ Mode opératoire : on a introduit 2 g d'H.E dans un ballon de 100 mL à lesquelles on a ajouté à l'aide d'une burette ; 25 mL de KOH à 0,5 M/L et quelques fragments de pierre ponce. Le ballon a été porté à reflux dans un bain-marie pendant 60 min.

Après le refroidissement du ballon, on a ajouté 20 mL d'eau, puis 5 gouttes de solution de phénolphaléine. Le retour l'excès d'alcali a été dosé par l'HCl 0,5 M/L jusqu'à la disparition de la couleur rose de la solution.

Un essai à blanc a été réalisé parallèlement dans les mêmes conditions opératoires en suivant le même protocole. L'indice d'ester (IE) a été calculé par la formule suivante :

$$E = \frac{28,05 (V_0 - V_1)}{m} - IA$$

- **V<sub>0</sub>** : Le volume de l'acide chlorhydrique.
- **0,5 M/L** : Le volume utilisé pour l'essai à blanc (mL).
- **V<sub>1</sub>** : Le volume de l'acide chlorhydrique 0,5 M/L utilisé avec l'H.E (mL).
- **m** : La masse en g de la prise d'essai de l'H.E (1 g).
- **IA** : La valeur de l'indice d'acide.

### 5.2.8.2.3. Détermination de l'indice de saponification (IS)

L'indice de saponification (IS) est la quantité de Potasse (KOH) en mg nécessaire pour transformer en savon les acides gras contenus dans 1 g d'H.E, ou bien c'est la somme de l'indice d'acide (IA) et de l'indice d'ester (IE).

L'indice de saponification (IS) a été calculé par la formule suivante :

$$IS = IE + IA$$

### 5.2.8.3. Mesure des grandeurs physiques

#### 5.2.8.3.1. Densité relative à 20 °C

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'H.E à 20 °C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température (20 °C).

▪ Principe : la densité relative à 20 °C a été calculée à l'aide d'un pycnomètre de 1 mL à 20 °C, c'est une grandeur exprimée en g/mL.

▪ Mode opératoire : on a noté la masse  $m_0$  du pycnomètre vide et la masse du pycnomètre rempli d'eau distillée ( $m_1$ ). Ensuite, on pèse le pycnomètre contenant l'H.E ( $M_2$ ), la densité relative a été donnée par la par la relation suivante :

$$D = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

- $m_0$  : La masse du pycnomètre vide (g).
- $m_1$  : La masse du pycnomètre rempli d'eau distillée (g).
- $m_2$  : La masse du pycnomètre rempli d'H.E (g).

#### 5.2.8.3.2. Indice de réfraction à 20 °C

C'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'H.E maintenue à une température constante.

▪ Principe : il a été déterminé à  $20 \pm 0,5$  °C, et rapporté à la raie D du sodium ( $\lambda = 589,3 \text{ nm} \pm 0,3 \text{ nm}$ ) à l'aide d'un réfractomètre et symbolisé par  $n$ .

▪ Mode opératoire : l'indice de réfraction  $n_D^{20}$  a été déterminé par une simple lecture directe à l'aide d'un réfractomètre en employant la lumière du jour, et fixant la température à 20 °C maintenue à l'aide d'un thermostat.

La détermination a été effectuée à une température  $T$  °C, et corrigée à 20 °C par le biais de la formule suivante :

$$n_D^{20} = n_D^t + (t - 20) \times 0,0004$$

- $t$  : La température du laboratoire (°C).
- $n_D^t$  : La raie de sodium.
- **0,0004** : L'indice de réfraction quand la température varie de 1 °f.

#### 5.2.8.3.3. Détermination du pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la propriété que possèdent les substances chirales de dévier le plan de polarisation d'une lumière polarisée. IL est considéré comme positif (+) dans le cas de substances dextrogyres (c'est-à-dire, celles qui dévient le plan de polarisation dans le sens des aiguilles d'une montre) et négatif (-) dans le cas des substances lévogyres.

▪ Principe : le pouvoir rotatoire spécifique a été défini par un angle, exprimé en milli-radians et/ou degrés d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde ( $\lambda = 589,3 \text{ nm} \pm 0,3 \text{ nm}$ ), correspondant aux raies D du sodium mesuré à 20 °C, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 mm.

▪ Mode opératoire : on a mis un échantillon d'H.E à 20 °C dans un tube de l'instrument en s'assurant l'absence de toute bulle d'air.

On a placé ce tube dans le polarimètre pour lire l'angle de rotation (+ ou -) de l'H.E sur l'échelle de l'appareil. Le pouvoir rotatoire  $[\alpha]_D^{20}$  a été obtenu en utilisant la relation suivante :

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times d_{20}}$$

- $\alpha$  : La valeur de l'angle de rotation lde l'H.E (° ou en milli-radians à  $20 \pm 0,5$  °C).
- $l$  : La longueur du tube polarimétrique (dm).
- $d_{20}$  : La densité de l'H.E utilisée à 20 °C.

#### 5.2.9. Analyse de la composition chimique des H.Es par la CG/MS

L'étude de la composition chimique d'un mélange naturel complexe tel que les H.Es a été réalisée à l'aide des méthodes d'analyses chromatographiques, il s'agit de la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG/FID) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS).

L'analyse chimique des H.Es a été effectuée à l'aide d'un chromatographe gazeux « CG », de type Hewlett Packard (Agilent Technologies) 6890 plus, qui contient une colonne de silice, et une interface de spectromètre de masse (Agilent technologies) 5973C VL MSD, dans les conditions opératoires suivantes :

- Colonne de type HP-5MS, de dimensions : 30 cm × 0,25 mm de Ø intérieur, épaisseur du film 0,25 µm.
- Température de l'interface : 280 °C, MS température de source : 230 °C, MS température quadripôle : 150 °C, intensité de filament : 70 eV, scan de 34 à 450  $m/z$ .

Les teneurs des composés chimiques des H.Es ont été identifiées en utilisant une chromatographie gazeuse Hewlett Packard 6890 (Agilent Technologies) équipé d'un injecteur unique et de deux détecteurs à ionisation de flamme « CG/FID », avec différentes phases stationnaires.

- Colonne : HP-5MS, les dimensions : 30 m × 0,25 mm de Ø interne, épaisseur du film 0,25 µm.

▪ Programme de température du four : 60 °C pendant 8 min, rampe de 2 °C/min jusqu'à 250 °C, puis maintenu isotherme pendant 10 min, température de l'injecteur et du détecteur : 250 °C.

▪ Gaz vecteur : hélium à 0,5 mL/min, volume injecté : 0,2 µl, Split 50 : 1.

L'identification des divers composés chimiques des H.Es de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* a été appuyée sur les indices de rétention (I.R) et leurs spectres de masse aussi. Ils ont été calculés en utilisant une interprétation linéaire par rapport au temps de rétention d'une série de n-alcane de C7 à C26 [104, 153].

#### 5.2.10. Etude anatomique

Dans le but d'identifier les organes végétatifs responsables de l'excrétion des H.Es, on a réalisé des coupes anatomiques transversales au niveau des tiges et au niveau de la nervure centrale des feuilles de la carotte et du thym, par la technique de double coloration observées au microscope optique (Figure 5.7), au Laboratoire de Botanique Médicale, Département de Pharmacie de la Faculté de Médecine d'Alger (DPFMA).

##### 5.2.10.1. Réalisation des coupes histologiques

Pour l'obtention des coupes histologiques parfaitement transversales, on a réalisé un plan de coupe perpendiculaire au grand axe de l'organe. Des fragments durs obtenus à partir des tiges, et des feuilles des plantes étudiées ont été mis à l'intérieur d'un morceau de moelle de sureau. Ainsi, des coupes très fines et uniformes ont été effectuées à main levée à l'aide d'une lame de rasoir neuve, (Figure 5.7a).

##### 5.2.10.2. Coloration des coupes histologiques

La structure anatomique des organes végétaux, a été observée sur des coupes minces à double coloration avec le vert de méthyle qui colore les parois lignifiées ou cutinisées en vert et les parois subérifiées en vert sombre, et le rouge Congo qui colore les parois pectocellulosiques en rose.

Les coupes histologiques réalisées ont été vidées et colorées selon les étapes suivantes :



- 1- Pour éliminer tout leur contenu cellulaire et vider les cellules de tout leur constituant cytoplasmique, les coupes ont été mises dans l'eau de javel diluée pendant 20 à 30 min, (Figure 5.7b).
- 2- Les coupes ont été rincées une première fois à l'eau courante pour se débarrasser des traces de l'eau de javel.
- 3- Les coupes ont été trempées dans l'acide acétique à 1 % pendant 1 min pour éliminer les traces de l'eau de javel, et neutraliser l'alcalinité de l'eau de Javel en améliorant la fixation des colorants sur les parois cellulaires (Figure 5.7c).
- 4- Les coupes ont été rincées une deuxième fois à l'eau courante pour chasser l'excès de l'acide acétique.
- 5- Les coupes ont été traitées avec le vert de méthyl pendant 20 min (Figure 5.7d).
- 6- Les coupes ont été rincées une troisième fois à l'eau courante.
- 7- Les coupes ont été traitées avec le rouge Congo pendant 15 min (Figure 5.7e).
- 8- Les coupes ont été recolorées avec le rouge Congo pendant 3 min.
- 9- Les coupes ont été rincées une dernière fois à l'eau courante.
- 10- Les plus fines coupes ont été placées sur une lame propre avec une goutte de glycérine et recouvertes avec une lamelle en évitant la formation de bulles (Figure 5.7f).

#### 5.2.10.3. Lecture des coupes histologique

La lecture a été réalisée au microscope photonique au faible grossissement pour l'allure générale puis au fort grossissement pour détailler la structure des tissus.

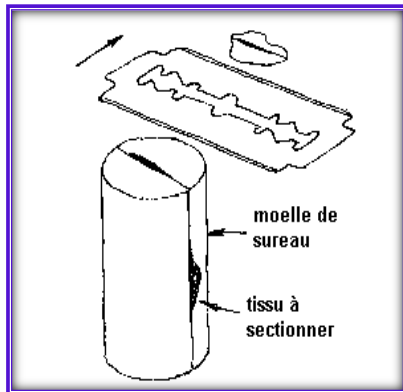


Figure 5.7a : Coupe histologique



Figure 5.7d : Vert de méthyle



Figure 5.7b : Elimination du contenu cellulaire



Figure 5.7d : Rouge Congo



Figure 5.7c : Neutralisation des tissus cellulaires



Figure 5.7f : Fines coupes histologiques

Figure 5.7 : Différentes étapes de réalisation des coupes histologiques (DPFMA, Originale : 2015)

### 5.2.11. Activité insecticide

Le présent travail vise à mettre en évidence une stratégie de lutte alternative basée sur l'utilisation des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*, et ce afin de lutter contre *T. absoluta*. Ces bio-essais ont été réalisés *in vitro* au Laboratoire de Biotechnologie Microbienne de la Faculté des Sciences de l'Université de Boumerdès (LBMFSUB) dans des conditions ambiantes. On a noté une température moyenne se situant entre 27 et 30 °C et un taux d'humidité relative allant de 75 à 80 % sur une période s'étalant du mois d'avril 2015 jusqu'au mois de juillet 2015.

#### 5.2.11.1. Techniques d'échantillonnage et d'identification de *T. absoluta*

L'échantillonnage est l'ensemble des opérations qui ont pour objet de prélever des spécimens dans une population d'individus pour constituer un échantillon [154].

Dans des serres de tomate et dans chaque parcelle élémentaire, on a opté pour un échantillonnage aléatoire, qui consiste à observer sur chaque plant des feuilles infestées à la base, au milieu et à l'apex. Ces feuilles ont été cueillies à l'aide des ciseaux. Ensuite, elles ont été mises dans des sachets en papier kraft. L'objectif de cette étape est de récupérer les différents stades larvaires de la mineuse de la tomate (Figure 5.8).

Au laboratoire, les larves ont été prélevées à partir des feuilles infestées à l'aide d'un pinceau, puis identifiées en utilisant une loupe binoculaire selon des caractères détaillés tels que la couleur et la taille des larves, ainsi que la forme des galeries correspondantes aux différents stades de développement.

Les différentes caractéristiques d'identification des larves sont enregistrées dans le tableau 5.6.

Tableau 5. 6 : Caractéristiques d'identification des larves de *T. absoluta* [111, 117]

Stade larvaire	Taille moyenne (mm)	Couleur de la larve	Forme des galeries
L1	0,73 à 1,6	Blanche ou crème	Rectiligne courte
L2	1,09 à 3,9	verte	Sinueuse et développée
L3	4,1 à 6,7	Vert foncé	Sinueuse et bien développée
L4	6,7 à 8	Verte avec une ligne dorsale rose à rougeâtre	Sinueuse et très développée

#### 5.2.11.2. Traitements des larves de *T. absoluta* par les différents E.Vx

Pour les E.M.Ls obtenus à partir des deux plantes étudiées, on a utilisé des concentrations binaires 2,5 - 5, et 10 mg/mL, les témoins négatifs ont été représentés par un mélange de DMSO à 1 % et les solvants d'extraction. En ce qui concerne les H.Es, on a utilisé les doses binaires suivantes : 50 - 100 - 200 - 400 et 800 µL/mL, le mélange du méthanol à 10 % avec 0,3 % de tween 80 a été considéré comme témoins négatifs [155].

On a utilisé aussi deux insecticides chimiques comme témoins positifs, il s'agit du Coragen® et du Voliam Targo®.

Dans des boîtes de Pétri quadrillées de 9 cm de diamètre, on a mis une moyenne de 10 larves de chaque stade de développement par boîte sur des folioles saines entreposées préalablement pour assurer l'alimentation des larves. Ces larves ont été traitées par contact directe avec les E.Vx à différentes doses, les témoins positifs et les témoins négatifs.

#### 5.2.11.3. Calcul de la mortalité des larves

L'efficacité d'un produit biocide sur une population donnée est évaluée par la mortalité de cette dernière. Les symptômes de la mortalité sont aperçus lorsqu'on constate l'absence de tous mouvements corporels des individus, même après chatouillement de l'insecte à l'aide d'une pince.

Au cours de cette étude, les taux de mortalité ont été déterminés après 24 - 48 et 72 h d'incubation à température ambiante pour les différents types de traitement. Le comptage des larves mortes a été fait sous loupe binoculaire.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage de mortalité selon la formule suivante :

$$\text{La mortalité observée (\%)} = \left( \frac{\text{Nombre de larves mortes}}{\text{Nombre total de larves}} \right) \times 100$$

Cependant le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique. Les taux de mortalité ont été calculés et corrigés par rapport aux taux de mortalité du témoin négatif à l'aide de la formule d'ABBOTT [156].

$$\text{La mortalité corrigée (MC \%)} = \left( \frac{M_2 - M_1}{100 - M_1} \right) \times 100$$

- **M<sub>1</sub>** : Le pourcentage de mortalité observée dans le témoin.
- **M<sub>2</sub>** : Le pourcentage de mortalité observée dans la population traitée.
- **MC** : Le pourcentage de mortalité corrigée.

Au cours de ces essais, les résultats obtenus ont été transformés en probits (la table de BLISS in CAVELIER, 1976 [157]), et ce afin de pouvoir tracer les droites de régression en fonction des logarithmes décimaux.

L'efficacité des extraits testés a été effectuée par la détermination de la dose létale à laquelle 50 % de la population traitée meurt (la DL<sub>50</sub> de mortalité) et le temps létal qui provoque la mortalité de 50 % de la population traitée (le TL<sub>50</sub> de mortalité).

$$Y = ax + b$$

- **Y** : Probit de mortalité corrigée.
- **X** : Logarithme du temps pour TL<sub>50</sub>, Logarithme de la dose pour DL<sub>50</sub>.

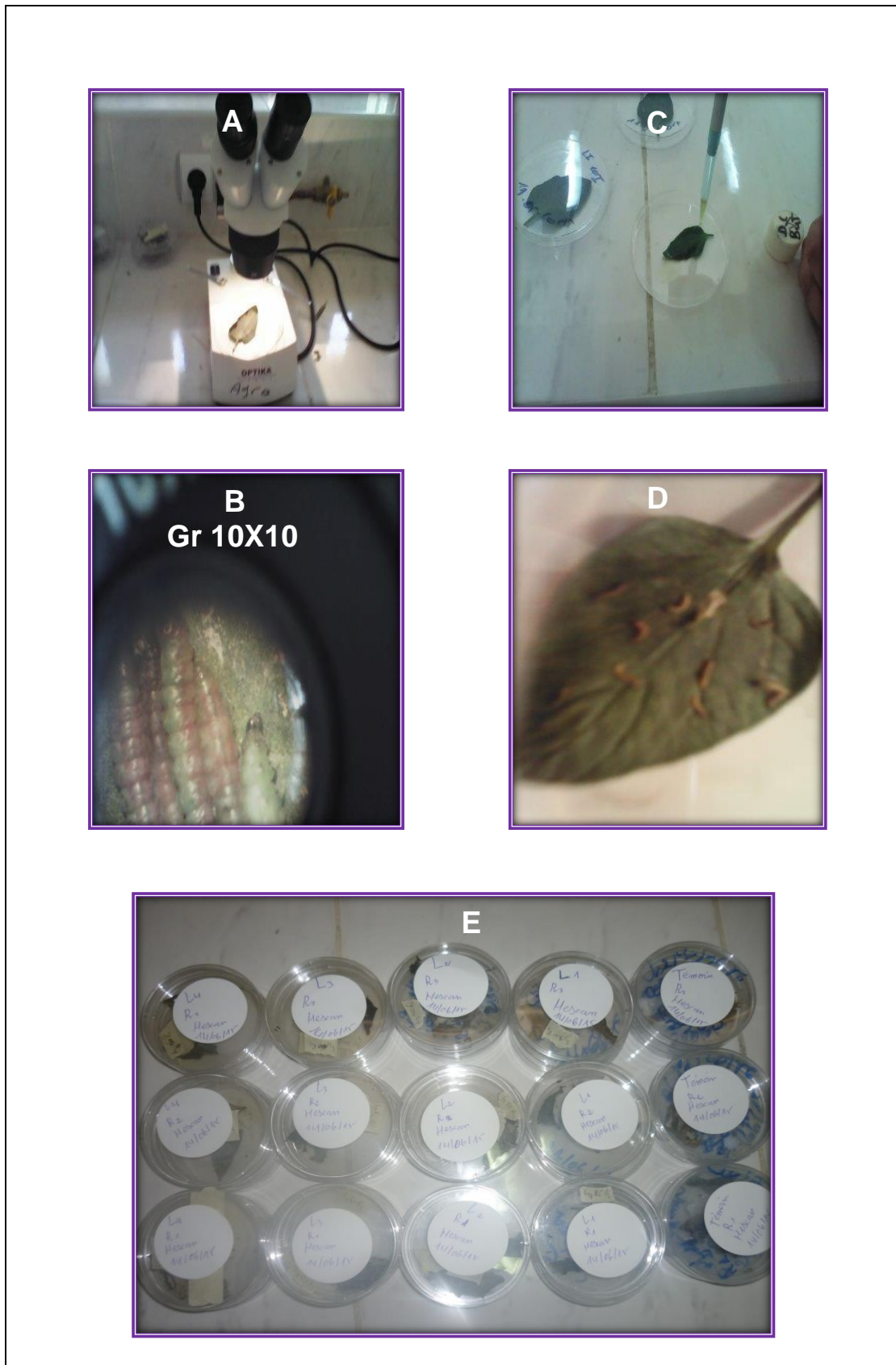


Figure 5.8 : Techniques d'identification des larves de *T. absoluta* (LBMFSUB, Originale : 2015)

### 5.2.12. Activité antimicrobienne

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien (activité antibactérienne et antifongique) des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*. Elle a été réalisée *in vitro* au niveau du Laboratoire de Microbiologie du Centre de Recherche et du Développement CRD-SAIDAL et le Laboratoire de Biotechnologie Microbienne du Département de Biologie à la Faculté des Sciences à l'Université M'hamed Bougerra-Boumerdès (LBMFSUB).

#### 5.2.12.1. Etude quantitative

La méthode adoptée est celle de Vincent, elle est appelée aussi technique de l'antibiogramme ou méthode par diffusion sur milieu gélosé. Elle est appliquée à un très grand nombre d'espèces microbiennes par l'action des antibiotiques sur la croissance des microorganismes, dont le principe est basé sur la résistance des souches microbiennes testées [160, 161].

Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice des agents antimicrobiens, par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné dans les différents E.Vx à tester. Elle est basée sur l'utilisation de deux couches de gélose, dont l'une d'entre elles est inoculée avec le germe testé. L'étude quantitative a été réalisée selon les étapes suivantes [80, 156, 162-164] et MO.C.LM.024 (Figure 5.9).

##### 5.2.12.1.1. Revivification et le repiquage des souches

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation, car leur activité biologique est nulle à l'état conservé. Cette revivification a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure.

La revivification a été réalisée en faisant un repiquage sur gélose nutritive favorable à la croissance des microbes. Pour faire revenir les souches de référence à la température ambiante, elles ont été déplacées du réfrigérateur et déposées sur la paillasse.

Les souches fournies sur des milieux de gélose de conservation ont été revivifiées par la méthode des stries sur le milieu gélose nutritif, Muller-Hinton pour

les bactéries et Sabouraud pour les levures et les champignons. Il est à noter que les bactéries ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. Par contre les levures ont été incubées à 25 °C pendant 48 à 72 h et entre 72 à 150 h pour les champignons.

#### 5.2.12.1.2. Préparation de l'inoculum

Dans le but d'obtenir une culture jeune de 18 h à 24 h pour les bactéries, de 48 h pour les levures et de 40 à 100 h pour les champignons. 3 à 5 colonies bien isolées et identiques ont été prélevées et émulsionnées dans 10 mL d'eau physiologique stérile à 0,9 %, et agitées à l'aide d'un vortex, et ce afin d'avoir des suspensions microbiennes ayant une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0,5 (106 UFC/mL).

La concentration de la suspension a été lue à l'aide d'un spectrophotomètre, UV visible par l'estimation de la transmittance à une longueur d'onde de 620 nm. Cette transmittance doit être comprise entre 22 et 32 % pour les bactéries et entre 2 et 3 % pour les levures et les champignons.

Si la valeur de la transmittance lue est comprise dans les intervalles cités ci-dessus, la concentration de la suspension est optimale ; cela veut dire qu'elle contient  $10^7$  à  $10^8$  germes/mL.

Si la valeur de la transmittance ne fait pas partie des deux intervalles cités, on ajuste la concentration, soit en ajoutant des colonies si elle est inférieure à la valeur minimale, soit de l'eau physiologique si elle est supérieure à la valeur maximale. L'inoculum doit être utilisé dans les 15 min qui suivent sa préparation.

#### 5.2.12.1.3. Préparation de la première couche des milieux de culture

Les deux milieux de culture, Muller-Hinton et Sabouraud, ont été fondus dans un bain-Marie à 95 °C et laissés refroidir jusqu'à une température de 45 °C. Ensuite, 15 mL de gélose ont été versés aseptiquement dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. La gélose a été refroidie à température ambiante pour se solidifier.



#### 5.2.12.1.4. Préparation de la deuxième couche des milieux de culture

Les milieux gélosé Mueller-Hinton et Sabouraud ont été liquéfiés dans un bain-marie à 95 °C, et refroidis jusqu'à une température de 45 °C. Puis, des flacons en verres stériles ont été remplis avec 50 mL de Mueller-Hinton pour les bactéries, et 50 mL de Sabouraud pour les levures et les champignons et ce pour chacune des souches. Ensuite, chaque 50 mL du milieu de culture a étéensemencé avec 200 µL d'une suspension microbienne donnée prélevée à l'aide d'une micropipette. Pour assurer l'homogénéisation de leurs contenus, les flacons du milieuensemencé ont été bien agités manuellement.

A la fin, 4 mL de chaque milieu inoculé par l'une des suspensions microbiennes ont été déposés sur la surface de la première couche de gélose solidifiée dans la boîte de Pétri correspondante. Cette couche a été bien étalée en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme. Dans le but de solidifier les milieux de culture, les boîtes ont été laissées sur la paillasse à température ambiante.

#### 5.2.12.1.5. Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, sur des disques stériles de cellulose (disque de référence : Papier filtre MN 640 w, MACHEREYNAGEL GmbH & co. KG Germany, 9 mm de diamètre), avec une micropipette on a déposé 20 µL de l'extrait à tester. Puis on a déposé le disque imbibé d'extrait sur la gélose correspondante.

A la fin, les boîtes de Pétri ont été fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 min, et mises à l'étuve à 37 °C pendant 24 h pour toutes les bactéries, à 25 °C pendant 48 à 72 h pour les levures, et à 25 °C pendant 72 à 150 h pour les champignons.

#### 5.2.12.1.6. Estimation de la zone d'inhibition des microbes

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (mm).

D'après CHIFUNDERA et *al.*, [165] et MO.C.LM.024, le diamètre des zones d'inhibitions (D) de la croissance microbienne a été symbolisé par des signes selon

la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés ; ils ont été classés selon l'échelle suivante en 5 classes :

- 1-Non inhibitrice : Ø de la zone d'inhibition < 10 mm.
- 2-Légèrement inhibitrice : 10 mm ≤ Ø de la zone d'inhibition ≤ 15 mm.
- 3-Bonne inhibitrice : 15 mm < Ø de la zone d'inhibition ≤ 20 mm.
- 4-Fortement inhibitrice : 20 mm < Ø de la zone d'inhibition ≤ 30 mm.
- 5-Très fortement inhibitrice : Ø de la zone d'inhibition >30 mm.

#### 5.2.12.1.7. Estimation du diamètre de croissance des champignons

Après six jours, les diamètres de la colonie fongique ou bien les diamètres de croissance des filaments ont été mesurés pour calculer le pourcentage d'inhibition selon la formule suivante[166] :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{D_{\text{témoin}} - D_{\text{extrait}}}{D_{\text{témoin}}} \times 100$$

**D<sub>extrait</sub>** : Le diamètre de la colonie fongique testé (mm).

**D<sub>témoin</sub>** : Le diamètre de la colonie fongique témoin (mm).

Pour les souches bactériennes à tester, on a comparé l'efficacité des E.Vx avec des antibiotiques synthétiques de marque Sigma-Aldrich, il s'agit de l'amoxicilline, la bacitracine, la carbenicilline, la céphalexine, le fluconazole et la kanamycine.

#### 5.2.12.2. Etude qualitative

D'après les résultats qualitatifs de l'activité antimicrobienne, il devient nécessaire de caractériser le pouvoir antimicrobien d'un composé par des paramètres simples. Le paramètre le plus courant est la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est déterminée par contact direct en milieu gélosé ou en milieu liquide. Elle correspond à la concentration nécessaire pour inhiber totalement la croissance d'un nombre déterminé de germes après un temps d'incubation donné [167].

#### 5.2.12.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »

Selon LAMBERT et *al.*, [168], DAVIDSON et PARISH [169] et MO.C.LM.024, la CMI est définie comme étant la plus faible concentration en extrait capable d'induire une réduction de la croissance microbienne visible de 90 % ; donc ne laisse survivre que 10 % de la population.

La CMI est donnée par la première concentration de l'extrait qui inhibe sur la gélose tout germe apparent en 24 à 70 h (selon le germe étudié). La CMI explore donc l'effet bactériostatique seulement, cette technique consiste à mettre en culture les microbes dans des boîtes avec une gamme de concentration croissante de l'extrait.

▪ Préparation de l'inoculum : à partir des cultures jeunes (18 à 24 h pour les bactéries, 48 h pour les levures et 120 h pour les champignons), on a réalisé des suspensions d'une concentration de  $10^8$  UFC/mL pour chaque souche testée.

Une série de dilution a été réalisée en versant 1 mL de chaque suspension dans 9 mL d'eau physiologique, ceci nous donne une concentration d'environ  $10^7$  UFC/mL. On a procédé de la même manière jusqu'à l'obtention d'une concentration de  $10^4$  UFC/mL, c'est cette dernière qui a été utilisée pour la détermination de la CMI.

▪ Préparation de la gamme de dilutions : cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en extrait. Pour préparer cette gamme, on a liquéfié 100 mL du milieu de culture à 95 °C dans un bain marie, dans lequel on a rajouté une solution mère de 2 % (v/v) de l'extrait à tester en diluant 2 mL de cet extrait dans 1 mL de Tween 80 ou 1 mL de DMSO. Après, pour avoir une bonne homogénéité, ce mélange a été fortement agité.

Pour avoir la dilution 1 %, 50 mL de ce mélange ont été versés dans un autre flacon, ce dernier a été ajusté à 100 mL avec le milieu de culture. On a procédé de la même manière jusqu'à l'obtention des autres concentrations.

On a versé 20 mL dans chacune des concentrations préparées dans des boîtes de Pétri ; ces dernières ont été laissées solidifier sur paillasse à température

ambiante. Par la suite, on a partagé ces boîtes en deux parties. Sur des disques stériles de 9 mm de diamètre ; on a ensemencé par spotage à l'aide d'une micropipette 2  $\mu$ L de chaque suspension microbienne testée dont la concentration correspond à  $10^4$  UFC/mL.

- Lecture : la CMI a été définie par l'absence de croissance visible au niveau des spots, la présence d'une ou deux colonies n'est pas prise en considération.

#### 5.2.12.2.2. Détermination de la CMB et la CMF

Fréquemment, la CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'incubation est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci a amené les chercheurs microbiologistes à définir d'autres paramètres qui sont la concentration minimale bactéricide (CMB), parfois appelée aussi létale (CML) et la concentration minimale fongicide (CMF). Elles correspondent à la concentration en agent inhibiteur nécessaire pour que l'activité bactéricide soit totale à un inoculum donné après un temps bien déterminé.

Ces concentrations minimales sont estimées en milieu liquide par l'évaluation des survivants après élimination du composé inhibiteur, la CMB et la CMF correspondent à la plus faible concentration en extrait capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial, soit moins de 0,01 % de survivants.

Elles définissent exactement l'effet létal d'un extrait après repiquage des disques où aucune croissance n'est présente lors de la détermination des CMI, l'expérimentation a été poursuivie en vue de la détermination des CMB et CMF. Cette technique consiste à déterminer la plus faible concentration en extrait, où aucune surcroissance microbienne n'est visible après subculture dans un milieu indemne d'extrait à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries, à 25 °C pendant 48 h pour les levures et à 25 °C pendant 120 h à 150 h pour les champignons.

Dans un premier temps, les milieux de culture ont été préparés de la même manière que pour l'étude qualitative. A l'aide d'une pince stérile, on a enlevé aseptiquement les disques correspondant aux concentrations de l'extrait, où aucune croissance n'a été observée pour chaque souche lors de la détermination des CMI, puis on les a placés dans les boîtes de Pétri déjà fournies.

A la fin ; on a incubé les boites aux températures et aux temps nécessaires à leurs développements.

▪Lecture : on a effectué une lecture à l'œil nu, la CMB et la CMF ont été déduites à partir des boites où aucune croissance d'une souche donnée n'a été constatée après subculture. Selon CANILLAC et MOUREY [170].

Les rapports CMB/CMI et CMF/CMI nous permettent de déterminer les actions bactéricide, bactériostatique, fongicide et fongistatique de l'extrait testé. Lorsque ce rapport est supérieur à 4, l'action est bactériostatique ou fongistatique ; et lorsqu'il est inférieur ou égale à 4, l'action est bactéricide ou fongicide.

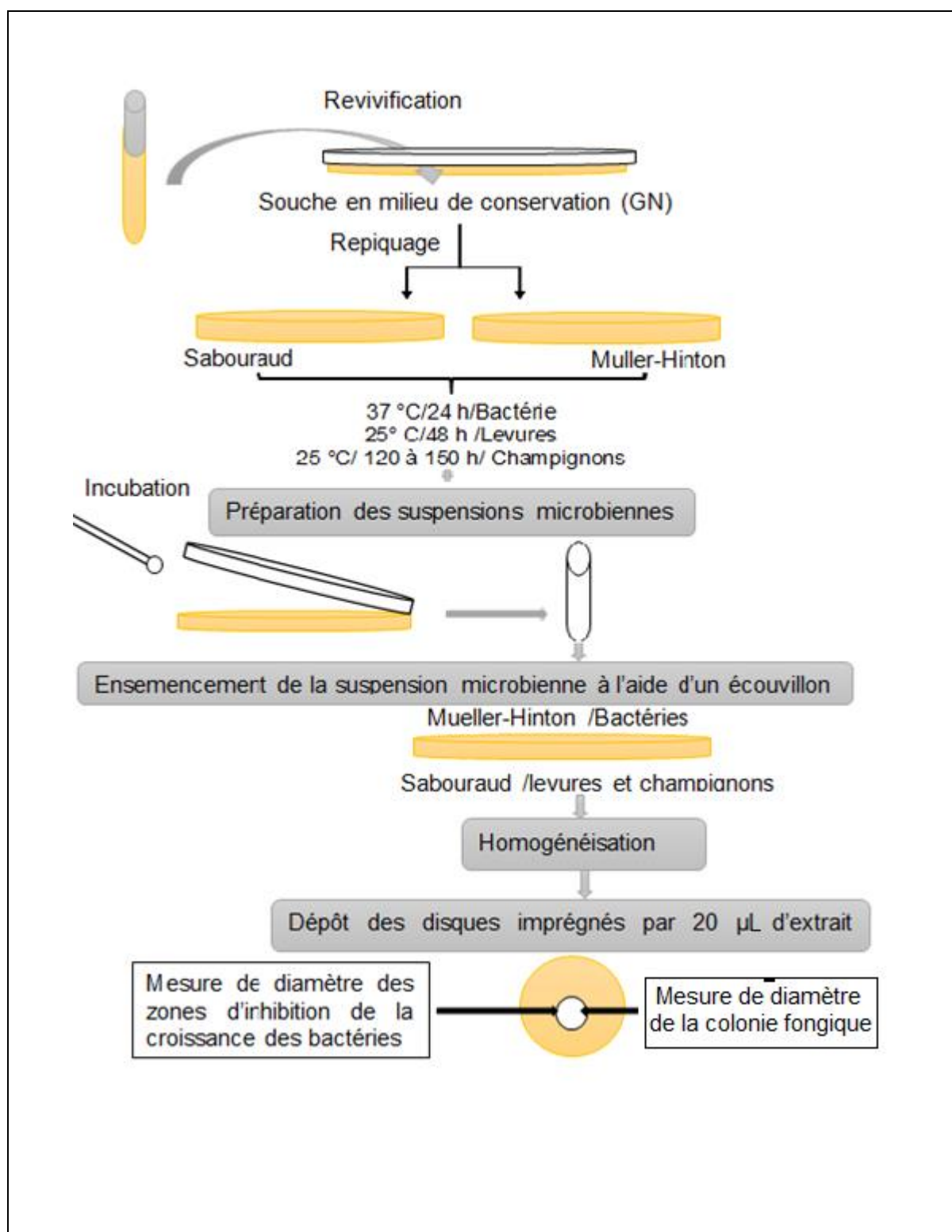


Figure 5.9 : Différentes étapes de réalisation de l'activité antimicrobienne d'un E.V (CRD-SAIDAL, Originale : 2015)

### 5.2.13. Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant est la capacité d'un composé à protéger un système biologique (une matrice) contre les effets, potentiellement nocifs, des processus chimiques impliquant des espèces réactives de l'oxygène et des espèces réactives de l'azote [171].

Ces effets protecteurs des antioxydants ont reçu une attention croissante durant les dernières années, et ce dans différents domaines à savoir ; biologique, médical, agro-alimentaire, et agro-chimique.

#### 5.2.13.1. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl DPPH<sup>®</sup> (DPPH scavenging activity)

##### 5.2.13.1.1. Principe

Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal de l'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH<sup>®</sup>, qui est transformé en une molécule stable DPPH-H.

Dans cette analyse, le radical libre stable DPPH<sup>®</sup> de couleur pourpre est réduit par les molécules dites antioxydantes en hydrazine jaune pâle. La capacité de piégeage est généralement évaluée dans les milieux organiques en suivant la diminution de l'absorbance à 517 nm jusqu'à ce que l'absorbance demeure constante. L'activité antioxydante de chaque extrait a été comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes de concentration inhibitrice de 50 % (IC<sub>50</sub>) [172].

##### 5.2.13.1.2. Mode opératoire

Le test utilisant le radical DPPH<sup>®</sup> a été réalisé *in vitro*, selon la méthode suivante : à 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH<sup>®</sup> à 0,04 mg/mL, on a ajouté 100 µL de chaque extrait de plante à différentes concentrations. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances a été effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible [146].

Pour réaliser cette mesure, on a utilisé trois témoins positifs, un témoin négatif et un blanc de la réaction qui ne contient que du méthanol pur. Le contrôle positif a

été représenté par trois antioxydants de référence, le BHT (Butylhydroxytoluène, E321), le BHA (butylhydroxyanisole, E320), et l'acide ascorbique (A.A), et le contrôle négatif a été composé de 100 µL de méthanol et de 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH® à 0,04 mg/mL. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[ \frac{(A_c - A_T)}{A_c} \right] \times 100$$

- $A_c$  : Absorbance du contrôle négatif.
- $A_T$  : Absorbance du test effectué.

#### 5.2.13.2. Détermination de la concentration inhibitrice de 50 % (IC<sub>50</sub>) des radicaux

La concentration inhibitrice de 50 % (IC<sub>50</sub>) est un paramètre utilisé pour estimer l'activité antioxydante, elle définit la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH®. La valeur de l'IC<sub>50</sub> a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition.

#### 5.2.14. Analyse statistique

##### 5.2.14.1. Analyse de la variance

Selon DAGNELIE [173], l'analyse de la variance est définie comme étant une méthode de comparaison de moyenne. Elle permet de déterminer l'influence des facteurs étudiés ou des interactions entre les facteurs.

Pour donner une signification statistique aux résultats obtenus à travers les différents paramètres étudiés, le traitement des données a été effectué à l'aide du logiciel SPSS 21 test, dont l'analyse de la variance à un intervalle de confiance de 0,05 % (test de Student-Newman-Keuls).

Pendant cette étude, tous les tests ont été réalisés en triplicata. Les résultats expérimentaux sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues ± l'écart type.



# **CHAPITRE 6**

## **Résultats & Discussion**

## CHAPITRE 6

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Dans le présent chapitre, on a étalé et discuté les résultats des différents essais effectués sur les E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*, à savoir l'étude phytochimique, le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, l'extraction des différents métabolites secondaires et leur identification par la CG/MS et la HPLC, l'étude anatomique, l'activité insecticide, l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydante, ainsi que l'analyse statistique des principaux résultats obtenus.

#### 6.1. Screening phytochimique

Les métabolites secondaires ont été identifiés selon les méthodes suivantes :

##### 6.1.1. Screening phytochimique des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*

Le tableau 6.1, montre les résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre et sur l'infusé des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*.

Tableau 6.1 : Résultats du screening phytochimique des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*

Métabolites	Ombelles de <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i>
Alcaloïdes	-
Anthocyanes	++
Coumarines	++
Flavonoïdes	+++
Glucosides	-
Leuco anthocyanes	+
Quinones combinées	-
Quinones libres	+
Saponosides	+++
Sénosides	+
Terpènes	+++
Tanins catéchiques	++
Tanins galliques	+++

- : Nulle, + : faible, ++ : Moyennement riche, +++ : Riche

D'après le tableau 6.1, au niveau des sommités fleuris de *D. carota* ssp. *carota*, les principaux composés présents en grande quantité sont des polyphénols.

Ces derniers sont représentés principalement par des flavonoïdes des saponosides, des tanins galliques et des terpènes. Les anthocyanes, les coumarines, et les tanins catéchiques sont moyennement présents.

On a révélé aussi des quantités faibles en leuco-anthocyanes, quinones libres et sénosides. Cependant les alcaloïdes, les glucosides et les quinones combinées sont totalement absents.

Les résultats du screening phytochimique de la présente étude confirment les études menées sur plusieurs espèces de *Daucus* dans des régions différentes en précisant que ce genre présente une dominance des polyphénols dans les différents organes de la plante.

BENDIABDELLAH, et *al.*, [78], ont signalé la présence des tanins, des flavonoïdes, des acides phénoliques et des coumarines en grandes quantités dans les feuilles et les tiges de *D. crinitus* appartenant à l'Algérie.

IVIE et *al.*, [174], ont indiqué que les racines fraîches et les feuilles de *D. carota* renferment des coumarines comme composé dominant. Ainsi GEBHARDT et *al.*, [175], ont confirmé que les Apiaceae contiennent beaucoup de flavonoïdes.

Selon ABDOUNE et *al.*, [176], les familles phytochimiques telles que les coumarines, les flavonoïdes, les sucres réducteurs, les stéroïdes, les tanins et les terpènes sont également présents dans les graines, les feuilles, les tiges, les fleurs et les racines de *D. crinitus* appartenant à la région de Tlemcen (Algérie).

Tandis que, l'analyse phytochimique préliminaire des ombelles florales de *Daucus aureus* Desf. de l'Algérie réalisé par MELIANI et *al.*, [177], ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes et des terpénoïdes.

#### 6.1.2. Screening phytochimique des feuilles *T. numidicus*

Le tableau 6.2, montre les résultats du test phytochimique effectué sur la sur la poudre et sur l'infusé des feuilles de *T. numidicus*.

Tableau 6.2 : Résultats du screening phytochimique des feuilles de *T. numidicus*

Métabolites	Feuilles de <i>T. numidicus</i>
Alcaloïdes	-
Anthocyanes	-
Coumarines	+++
Flavonoïdes	+++
Glucosides	+++
Leuco anthocyanes	-
Quinones combinées	-
Quinones libres	-
Saponosides	+++
Sénosides	++
Terpènes	+++
Tanins catéchiques	-
Tanins galliques	+++

- : Nulle, + : faible, ++ : Moyennement riche, +++ : Riche

Le tableau 6.2, montre que les feuilles de *T. numidicus* renferment une quantité importante de coumarines, flavonoïdes, glucosides, saponosides, tanins galliques ainsi que des terpènes. Les sénosides sont moyennement présents. Tandis que les alcaloïdes, les anthocyanes, les leuco anthocyanes, les quinones combinées, les quinones libres et les tanins catéchiques sont complètement absents.

Selon les travaux ultérieurs sur le genre *Thymus*, on constate que les différentes parties de cette plante provenant de différents endroits renferment des quantités importantes de polyphénols, confirmant nos les résultats.

D'après TREKI et *al.*, [178], les métabolites secondaires des feuilles de *T. hirtus* de Constantine (Algérie) sont représentés principalement par des flavonoïdes. Par ailleurs, KHOLKHAL et *al.*, [179], ont noté que les parties aériennes de *T. ciliatus* ssp. *coloratus* de Tlemcen (Algérie) présentent des proportions importantes de flavonoïdes et de tanins catéchiques. Par contre, les alcaloïdes, les anthocyanes, les coumarines, et les saponosides sont absents. Néanmoins, les racines présentent uniquement des flavonoïdes en grande quantité, et les tanins catéchiques sont en faibles quantités. Les autres métabolites sont totalement absents.

Selon ZEGHAD et MERGHEM [180], les feuilles de *T. vulgaris* provenant de Constantine (Algérie), contiennent majoritairement des flavonoïdes.

Les feuilles de *T. numidicus* analysées par ZEGHIB, [181], appartenant à l'Est Algérien (Constantine) ont présenté une variabilité en quantité et en qualité de polyphénols.

De même, les travaux de GEORGIU et *al.*, [182], sur le même thym en provenance d'Annaba (Algérie) ont confirmé la présence de plusieurs types de polyphénols (apigénine, xanthomicrol, luteoline, 7-O-b-glucuropyranoside et circimaritine).

## 6.2. Rendements de l'extraction par solvant

Le rendement de l'extraction par solvant a été calculé en fonction de la masse de l'extrait obtenu et la masse du végétal sec. Ce dernier varie selon le métabolite recherché et selon la nature du solvant aussi.

### 6.2.1. Rendements de l'extraction par solvant à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*

Les résultats des rendements de l'extraction par solvant à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* est illustré dans la figure 6.1.

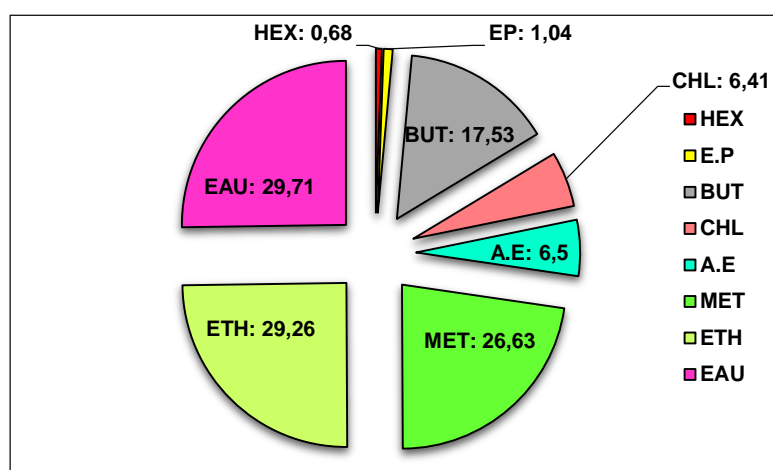


Figure 6.1 : Rendements de l'extraction par solvant à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*

D'après les résultats illustrés dans la figure 6.1, il en ressort que l'extraction aqueuse à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*, présente le rendement le plus important avec un taux de 29,71 %. Il est suivi par l'extraction aux alcools les plus polaires à savoir 29,26 % pour le méthanol, 26,63 % pour l'éthanol, et 17,53 % pour le butanol.

Les extraits de l'acétate d'éthyle, du chloroforme, de l'éther de pétrole et de l'hexane viennent en dernier avec respectivement des taux très faibles à savoir 6,5 - 6,41 - 1,04 et 0,68 %.

Les résultats obtenus sont en accord avec les résultats cités par ABDOUNE et al., [176], qui ont précisé que l'extraction des métabolites secondaires à partir des fleurs de *D. crinitus* récoltées à Tlemcen avec des solvants à polarité croissante, à savoir, le chloroforme, l'éthanol et l'eau, présente un rendement élevé uniquement avec l'extrait aqueux (17,17 %), suivi par l'extrait éthanolique avec 9,86 %, et en fin l'extrait chloroformique avec 3,31 % seulement.

#### 6.2.2. Rendements de l'extraction par solvant à partir des feuilles de *T. numidicus*

La figure 6.2 représente le rendement de l'extraction par solvant à partir des feuilles de *T. numidicus*.

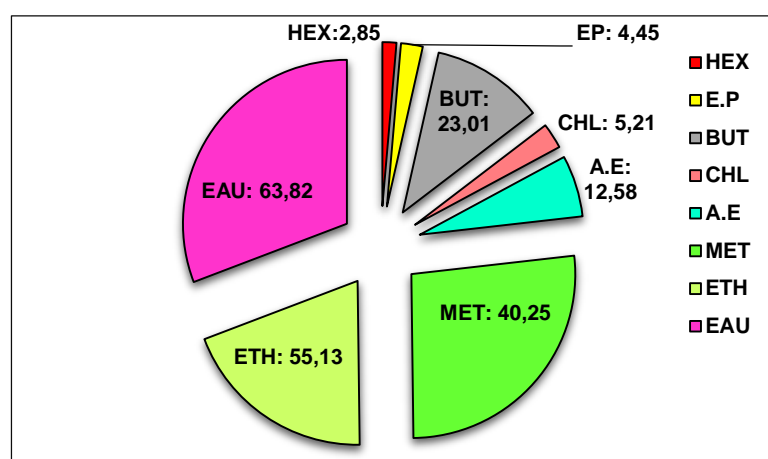


Figure 6.2 : Rendement de l'extraction par solvant à partir des feuilles de *T. numidicus*

La figure 6.2, montre une très grande différence dans les rendements. Ainsi, le taux le plus élevé est obtenu avec l'extrait aqueux (63,82 %). Ensuite les extraits de l'éthanol, du méthanol et du butanol avec respectivement des taux moins importants de 55,13 - 40,25 et 23,01 %. Tandis que, l'extrait de l'acétate d'éthyle présente un rendement relativement faible de 12,58 %. Les extraits du chloroforme, de l'éther de pétrole et de l'hexane ont des taux très faibles avec respectivement 5,21 - 4,45 et 2,85 % seulement.

ZEGHIB [181], a signalé que les solvants les plus polaires à savoir l'eau et les alcools tels que le méthanol et le butanol donnent les meilleurs teneurs. Pour cet auteur, les rendements en extraits hydro-alcoolique, aqueux et méthanolique des feuilles de cette plante sont respectivement de 18,65 - 10,47, et 8,66 %.

Pour DJEDDI et *al.*, [183], les différents extraits organiques de *T. numidicus* ont donné les rendements suivants ; le dichlorométhane (16,41 g), le méthanol (20,11 g) et le méthanol-eau (15,26 g). En confirmant les résultats de BENYAHIA [184], qui a prouvé que les rendements des différents extraits préparés à partir de la macération des feuilles de *T. capitatus* dans l'hexane, le chloroforme, l'éthanol et l'eau correspondent respectivement à 3,18 - 3,66 - 6,33 et 8,56 %.

### 6.3. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Les polyphénols ont été dosés par la méthode spectrophotométrique UV-visible au réactif de Folin-Ciocalteu et les flavonoïdes par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Ainsi, la concentration en polyphénols et en flavonoïdes dans chaque extrait testé, a été déterminée par la mesure de l'absorbance (la densité optique) utilisée dans l'équation de la courbe d'étalonnage.

#### 6.3.1. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux

La quantité des polyphénols totaux a été exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par g de la MVS (mg Eq AG/g MVS) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique :  $DO = F (C) + B$  (Figure 6.3).

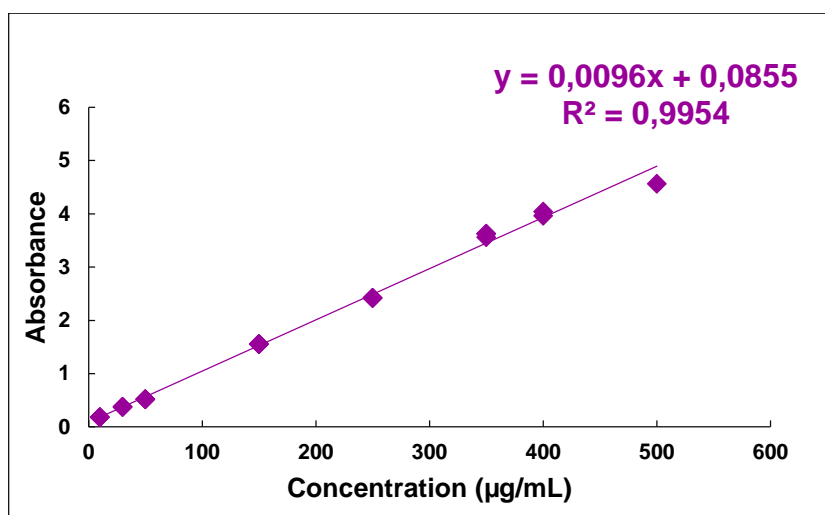


Figure 6.3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Pour le dosage des polyphénols des E.M.Ls, on a utilisé l'équation de la régression linéaire suivante :  $DO = 0,0096 C + 0,0855$ , avec  $R^2 = 0,9954$  pour le *D. carota ssp. carota* et pour le *T. numidicus*.

### 6.3.2. Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes

Quant au dosage des flavonoïdes, il a été exprimé en mg d'équivalent de quercétine par g de la MVS (mg Eq Q/g MVS), ce qui nous a permis d'avoir l'équation de la courbe d'étalonnage suivante :  $DO = (0,0500) * C$  avec  $R^2 = 1$ . Cette courbe d'étalonnage est illustrée dans la figure 6.4.

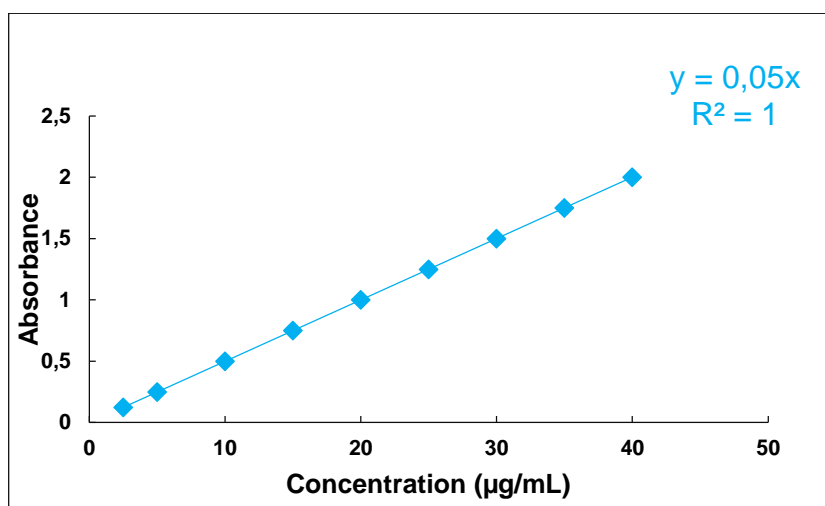


Figure 6. 4 : Courbe d'étalonnage de la quercétine



Ces deux courbes d'étalonnage (Figures 6.3 et 6.4), nous ont permis de calculer les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes dans les E.M.Ls des deux plantes étudiées. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes dans les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Types d'extrait	Teneur en polyphénols totaux (mg Eq AG/g MVS)		Teneur en flavonoïdes (mg Eq Qu/g MVS)	
	<i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i>	<i>T. numidicus</i>	<i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i>	<i>T. numidicus</i>
<b>Hexanique</b>	4,16 ± 1,05	6,76 ± 1,03	1,38 ± 0,25	1,57 ± 0,69
<b>Ether de pétrole</b>	45,16 ± 0,75	52,63 ± 0,98	19,58 ± 0,68	13,13 ± 1,34
<b>Butanolique</b>	78,3 ± 2,25	92,32 ± 2,97	47,76 ± 1,03	55,78 ± 1,32
<b>Chloroformique</b>	11,52 ± 1,38	13,05 ± 1,58	2,75 ± 0,35	2,18 ± 1,33
<b>Acétate d'éthyle</b>	97,85 ± 1,45	89,64 ± 1,69	33,81 ± 1,89	42,25 ± 2,04
<b>Méthanolique</b>	276 ± 2,67	280,25 ± 3,87	114,85 ± 3,57	130,26 ± 1,08
<b>Ethanolique</b>	223,71 ± 2,9	273,21 ± 3,37	80,50 ± 2,49	100,83 ± 1,03
<b>Aqueux</b>	72,54 ± 1,31	94,23 ± 2,96	3,83 ± 0,09	10,6 ± 1,00

Les résultats présentés dans le tableau 6.3, montrent les taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes dans les E.M.Ls des deux plantes étudiées.

### 6.3.3. Dosage des E.M.Ls des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*

L'extrait méthanolique contient la teneur la plus importante en polyphénols totaux avec 276 ± 2,67 mg Eq AG/g MVS. Alors que, l'extrait éthanolique présente une valeur de 223,71 ± 2,9 mg Eq AG/g MVS.

Cependant, les quantités des polyphénols totaux dans l'extrait de l'acétate d'éthyle, de l'extrait butanolique, de l'extrait aqueux et de l'extrait de l'éther de pétrole sont relativement moyennes. Elles sont respectivement de 97,85 ± 1,45 - 78,3 ± 2,25 - 72,54 ± 1,31 et 45,16 ± 0,75 mg Eq AG/g MVS.

Tandis que pour les autres d'extraits, les teneurs en polyphénols sont très faibles avec seulement  $11,52 \pm 1,38$  mg Eq AG/g MVS dans l'extrait chloroformique et  $4,16 \pm 1,05$  mg Eq AG/g MVS dans l'extrait hexanique.

Concernant la teneur en flavonoïdes, c'est toujours l'extrait méthanolique qui révèle la quantité la plus importante avec  $114,85 \pm 3,57$  mg Eq Qu/g MVS, suivi par l'extrait éthanolique avec  $80,50 \pm 2,49$  mg Eq Qu/g MVS.

Par ailleurs, l'extrait butanolique, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait de l'éther de pétrole démontrent des teneurs moyennes en flavonoïdes, qui sont respectivement de  $47,76 \pm 1,03$  -  $33,81 \pm 1,89$  -  $19,58 \pm 0,68$  mg Eq Qu/g MVS.

On note aussi, des teneurs très faibles de flavonoïdes dans l'extrait aqueux, l'extrait chloroformique et l'extrait hexanique. Elles sont respectivement de  $3,83 \pm 0,09$  -  $2,75 \pm 0,35$  et  $1,38 \pm 0,25$  mg Eq Qu/g MVS.

D'après BENDIABDELLAH et *al.*, [78], les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits méthanolique et aqueux des feuilles et des tiges de *D. crinitus* appartenant à la région de Tlemcen (Algérie) sont respectivement de  $130,19 \pm 5$  et  $89,80 \pm 3$  µg Eq AG/mg d'extrait. De même, l'extrait méthanolique s'est révélé plus riche en flavonoïdes ( $86,72 \pm 4$  µg Eq Qu/mg MVS) que l'extrait aqueux avec  $49,77 \pm 2$  µg Eq Qu/mg MVS.

MLADENOVIC et *al.*, [185], ont rapporté que les extraits éthanoliques obtenus à partir des parties aériennes de la carotte cultivée (*D. carota*) en Serbie renferment une teneur de  $50,42 \pm 0,02$  mg Eq AG/g MVS de polyphénols et  $23,19 \pm 0,54$  mg Eq Ru/g MVS de flavonoïdes.

Cependant, ALY-TORKY [186], a indiqué que la teneur totale en polyphénols dans les extraits acétoniques des feuilles et des racines de *D. carota* est de  $387,2$  mg Eq AG/100 g MVS et  $290,6$  mg Eq AG/100 g MVS respectivement. Tandis que les extraits aqueux montrent une teneur de  $345,5$  mg Eq AG/100 MVS g dans les feuilles et une teneur de  $230$  mg Eq AG/100 g MVS dans les racines.

Selon l'étude faite par PAVLYUK et *al.*, [187], sur les extraits hydro-éthanoliques des graines de *D. carota* à différentes concentrations, l'extrait hydro-éthanolique à 40 % renferme une quantité de  $92,381 \pm 4,8$  mg Eq AG/g MVS de

polyphénols et  $15,6 \pm 2,2$  mg Eq Lu/g MVS de flavonoïdes, par contre l'extrait hydro-éthanolique à 70 % possède une teneur plus élevée de polyphénols avec  $173,777 \pm 8,6$  mg Eq AG/g MVS et uniquement  $6,65$  mg Eq Lu/g MVS de flavonoïdes.

#### 6.3.4. Dosage des E.M.Ls des feuilles de *T. numidicus*

D'après le tableau 6.3, on remarque que la teneur en polyphénols totaux obtenue avec l'extrait méthanolique est la plus élevée avec  $280,25 \pm 3,87$  mg Eq AG/g MVS, suivi par l'extrait éthanolique avec un taux de  $273,21 \pm 3,37$  mg Eq AG/g MVS.

Après, on mentionne l'extrait aqueux avec  $94,23 \pm 2,96$  mg Eq AG/g MVS, l'extrait butanolique avec  $92,32 \pm 2,97$  mg Eq AG/g MVS, l'extrait de l'acétate d'éthyle avec  $89,64 \pm 1,69$  mg Eq AG/g MVS, l'extrait de l'éther de pétrole avec  $52,63 \pm 0,98$  mg Eq AG/g MVS, l'extrait chloroformique avec  $13,05 \pm 1,58$  mg Eq AG/g MVS et en dernier une teneur très faible de  $6,76 \pm 1,03$  mg Eq AG/g MVS représenté dans l'extrait hexanique.

De même, la teneur en flavonoïdes est proportionnelle avec la teneur en polyphénols, elle est de  $130,26 \pm 1,08$  -  $100,83 \pm 1,08$  -  $55,78 \pm 1,32$  -  $42,25 \pm 2,04$  -  $13,13 \pm 1,34$  -  $2,18 \pm 1,33$  et  $1,57 \pm 0,69$  mg Eq Qu/g MVS dans les extraits méthanolique, éthanolique, butanolique, de l'acétate d'éthyle, de l'éther de pétrole, chloroformique et hexanique respectivement, excepté l'extrait aqueux qui a enregistré une teneur très faible de polyphénols ( $10,6$  mg Eq Qu/g MVS).

D'après BEN EL HADJ ALI et *al.*, [75], les teneurs totales en phénols dans les extraits de l'éther de pétrole, de l'acétate d'éthyle et du méthanol obtenus à partir des racines, des tiges et des feuilles de *T. numidicus* Tunisien sont très diversifiées.

Les plus fortes quantités de polyphénols ont été obtenues dans l'extrait méthanolique des feuilles, soit une portion de  $98,66 \pm 3,17$  mg Eq AG/g MVS et  $54,28 \pm 1,6$  mg Eq Ru/g MVS de flavonoïdes,  $27,23 \pm 1,71$  mg Eq Ru/g MVS de flavonols et  $5,12 \pm 0,8$  µg de chlorure de cyanidine/g MVS de proanthocyanidines.

Cependant, selon TREKI et *al.*, [178], la fraction de l'acétate d'éthyle ainsi que la fraction de l'éther diéthylique des feuilles de *T. hirtus* contiennent respectivement  $1,05$  et  $1,8 \pm 0,12$  mg Eq Ca/g MVS, elles sont très riches en polyphénols de type

flavonoïde. Tandis que la fraction butanolique est la plus pauvre en flavonoïdes avec  $0,49 \pm 0,04$  mg Eq Ca/g MVS seulement.

Selon ZEGHAD et MERGHEM [180], la teneur en flavonoïdes dans l'extrait organique des feuilles de *T. vulgaris* prélevées à Constantine est de  $8,56 \pm 0,001$  mg Eq Qu/g MVS.

ZEGHIB [181], a indiqué que la teneur en polyphénols extraits à partir des feuilles de *T. numidicus* est supérieure à 10 mg Eq pyrogallol/100 g MVS dans les extraits les plus polaires (méthanoliques et éthanoliques).

Ainsi, l'étude faite par DJEDDI et *al.*, [183], sur les feuilles de *T. numidicus* récoltées à Annaba (Algérie), montre que l'extrait du méthanol-eau et l'extrait méthanolique possèdent une teneur considérable en polyphénols avec respectivement 513,60 et 377,40 mg Eq AG/g d'extrait.

#### 6.4. Analyse qualitative des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* par la HPLC

Afin de séparer et identifier les différents types de polyphénols qui existent au niveau des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*, on a fait recours à la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), qui nous a permis de comparer les chromatogrammes de nos extraits par rapport aux chromatogrammes de trois étalons choisis. Les chromatogrammes des étalons sont démontrés dans les figures ; 6.5a, 6.5b et 6.5c.

##### 6.4.1. Analyse qualitative des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* par la HPLC

Les chromatogrammes des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* sont illustrés dans les figures ; 6.6 - 6.7 - 6.8 - 6.9 - 6.10 - 6.11 - 6.12 et 6.13.

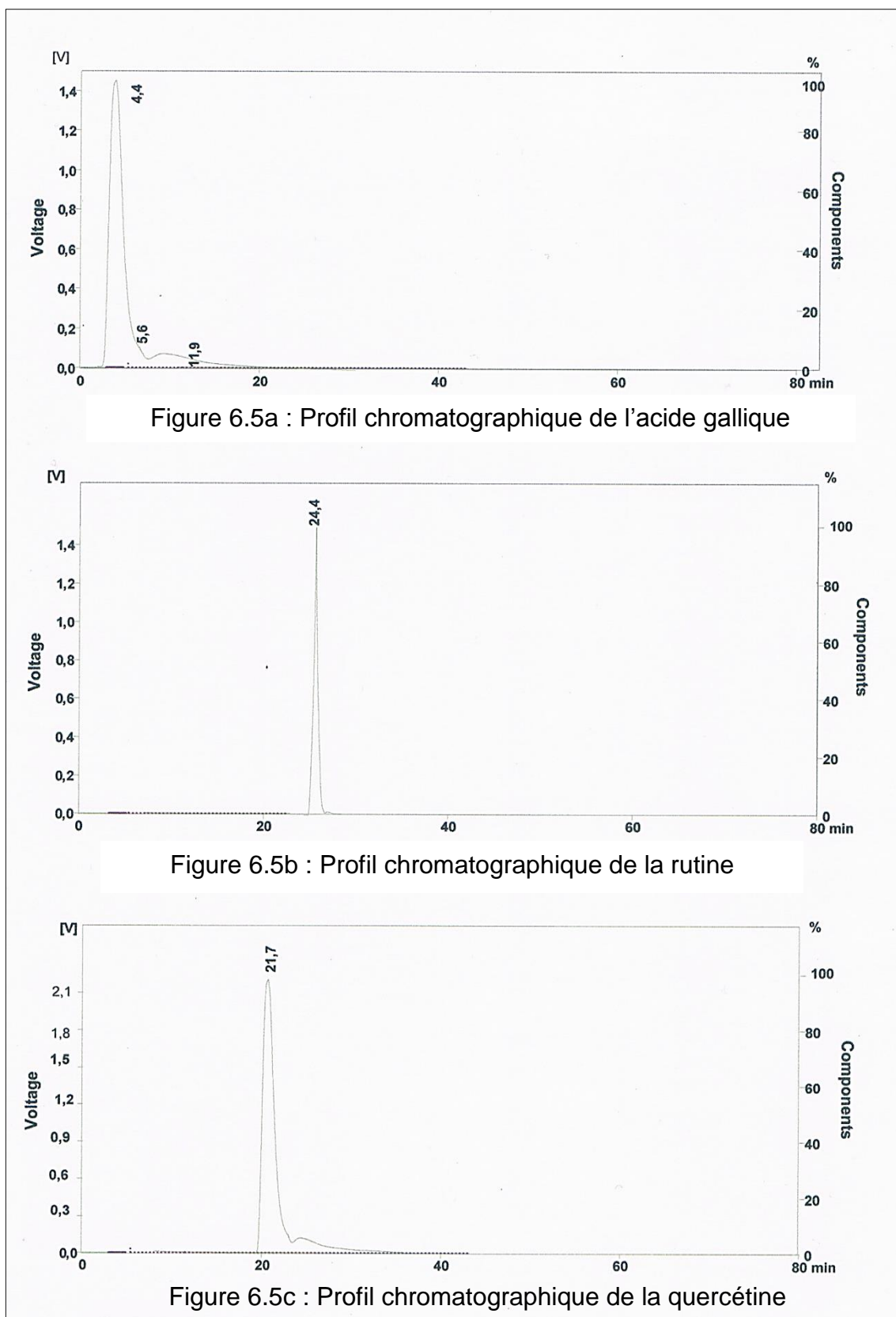


Figure 6.5 : Profils chromatographiques des étalons à  $\lambda = 365$  nm (acide gallique, rutine et quercétine)

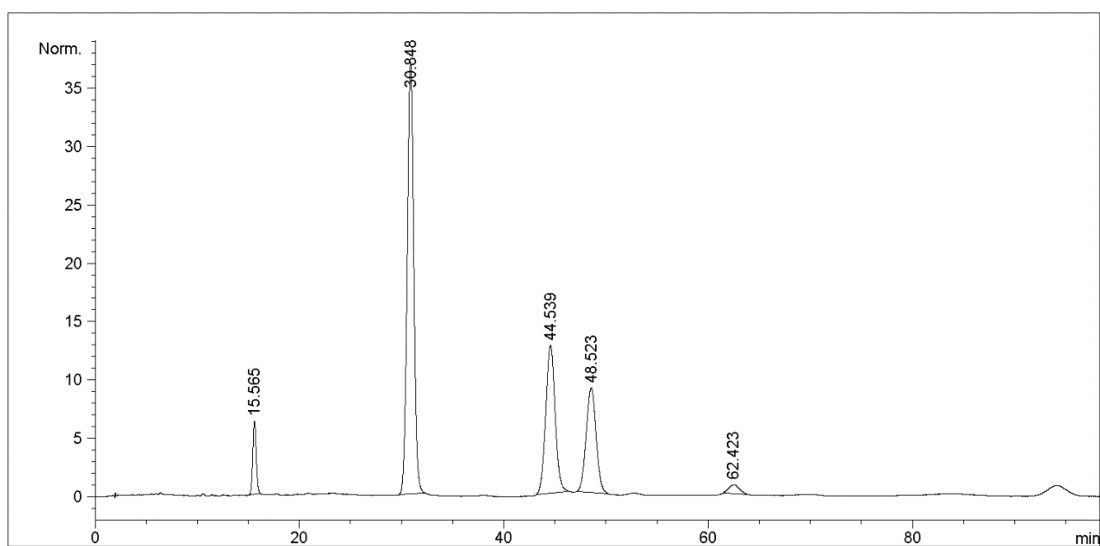


Figure 6.6 : Profil chromatographique de l'extrait hexanique de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm

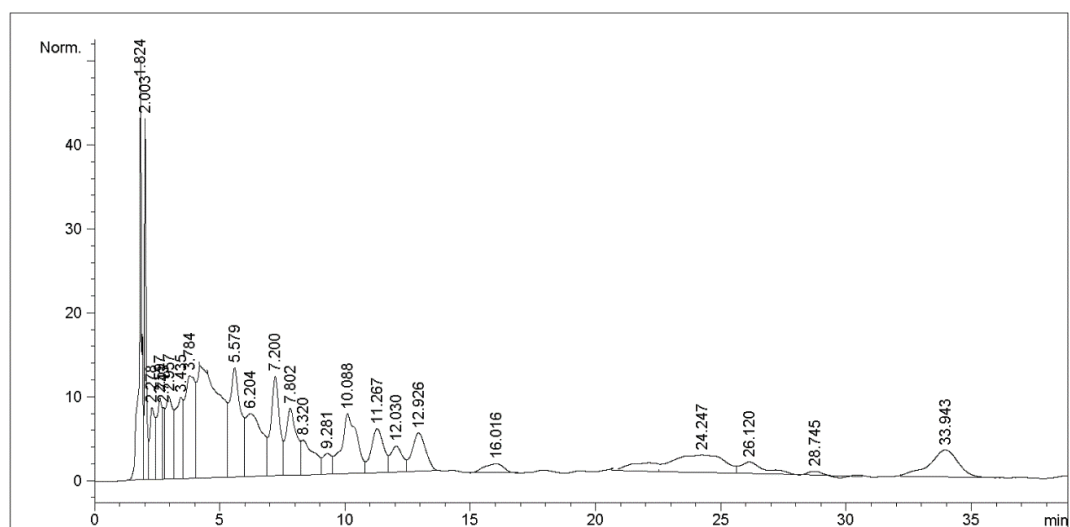


Figure 6.7 : Profil chromatographique de l'extrait de l'éther de pétrole de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm

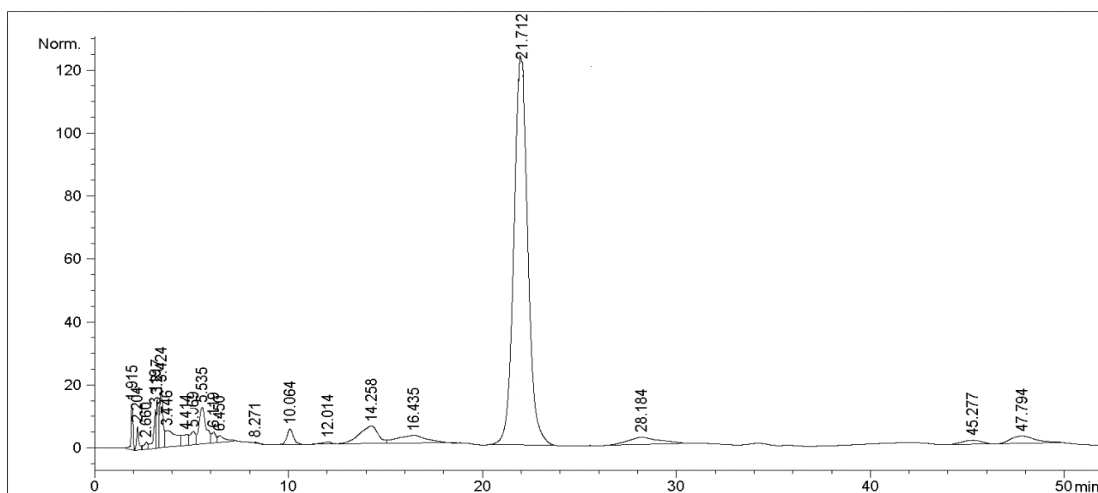


Figure 6.8 : Profil chromatographique de l'extrait butanolique de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm

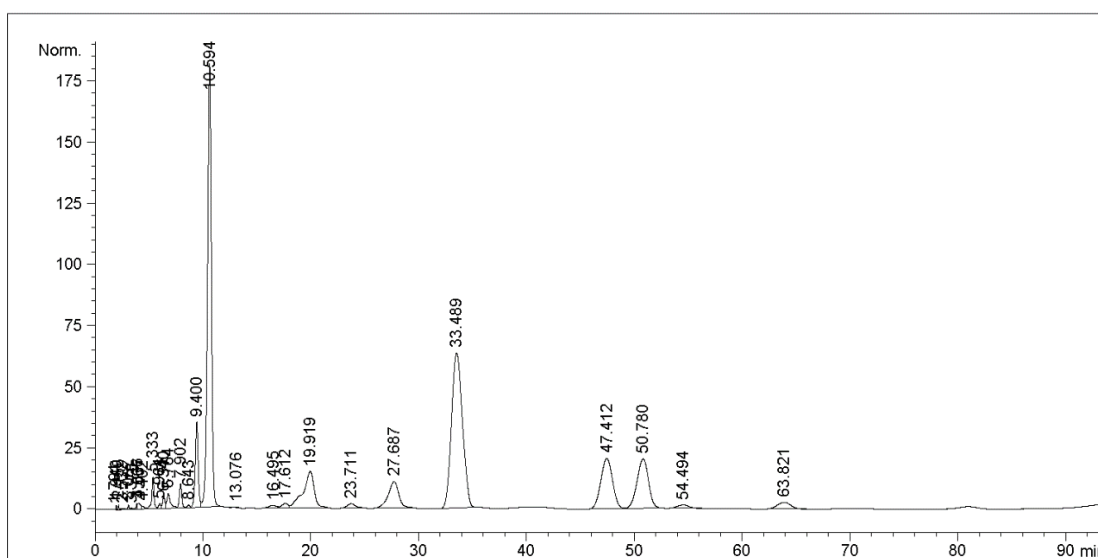


Figure 6.9 : Profil chromatographique de l'extrait chloroformique de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm

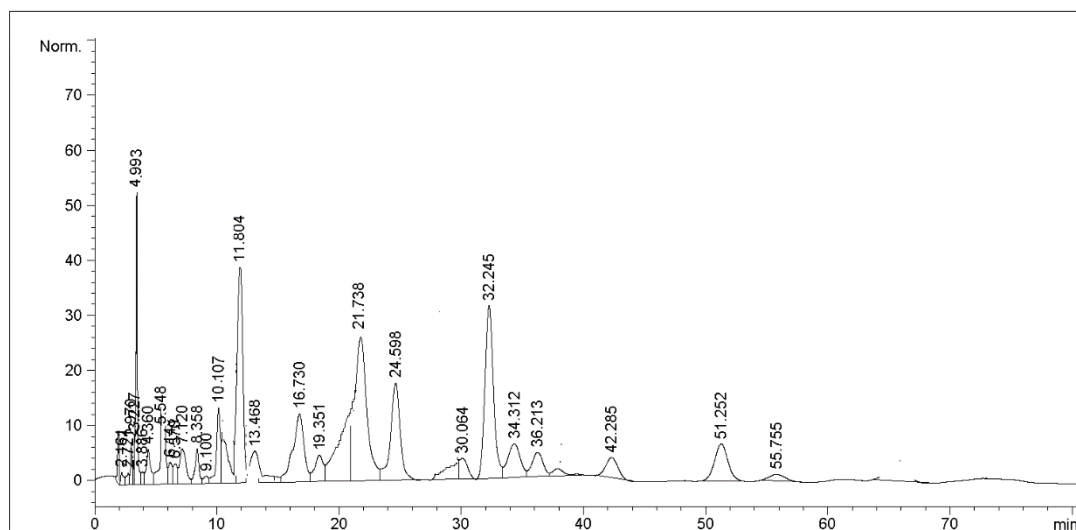
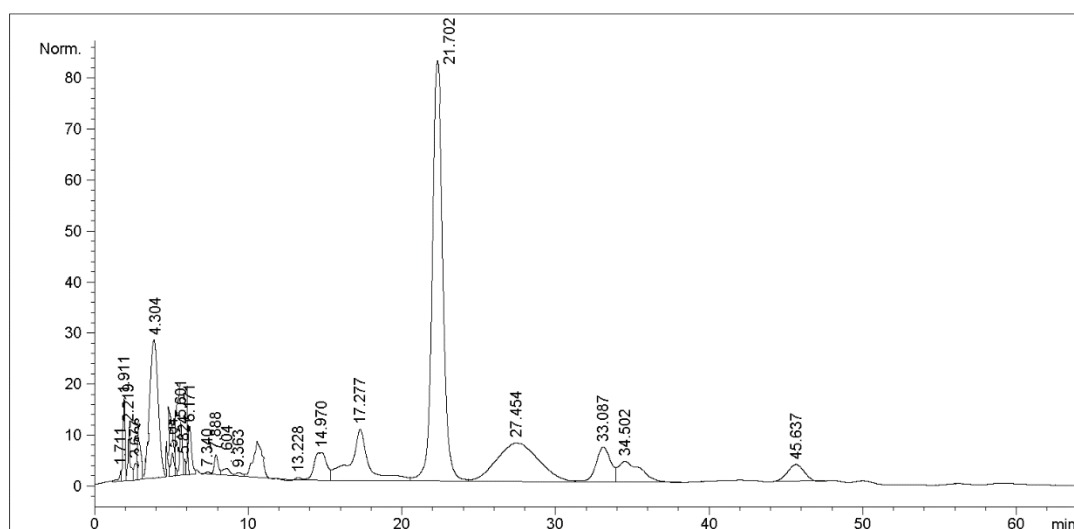


Figure 6. 10 : Profil chromatographique de l'extrait de l'acétate d'éthyle de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm





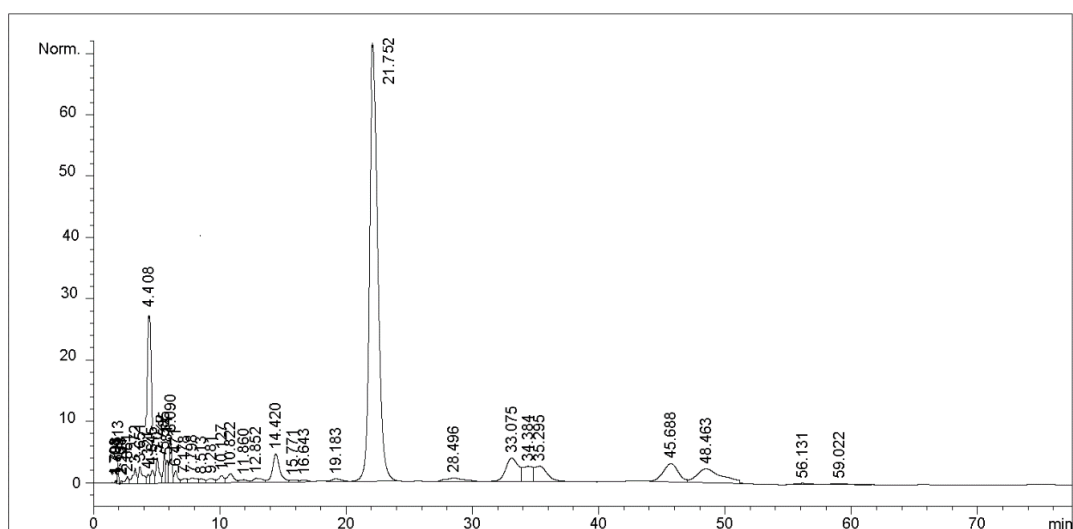


Figure 6.12 : Profil chromatographique de l'extrait éthanolique de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm

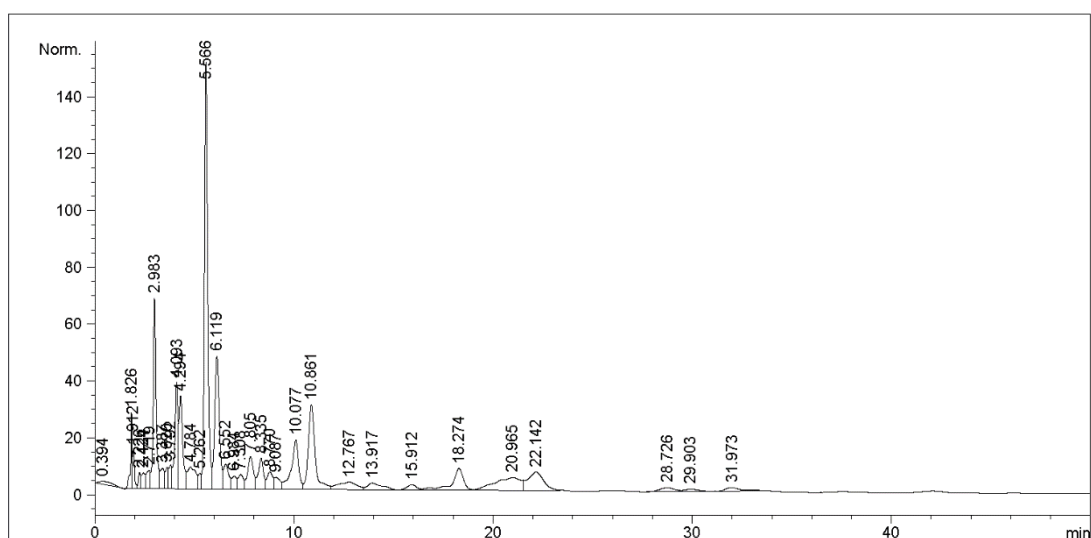


Figure 6.13 : Profil chromatographique de l'extrait aqueux de *D. carota* ssp. *carota* à  $\lambda = 365$  nm

La comparaison des temps de rétention des pics chromatographiques des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* avec les pics chromatographiques de chaque étalon nous a permis d'identifier des aglycones libres et des acides phénoliques dans ces extraits. Les résultats obtenus sont renseignés dans le tableau 6.4.

Tableau 6.4 : Teneur en acides phénoliques (acide gallique), hétérosides (rutine hydrate) et aglycones libres (quercétine) dans les différents E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota*

Etalons Temps de rétention (min)	Acide phénolique Acide gallique 4,4		Hétéroside Rutine hydrate 21,7		Aglycone libre Quercétine 24,4	
	Tps de rétention (min)	Teneur relative (%)	Tps de rétention (min)	Teneur relative (%)	Tps de rétention (min)	Teneur relative (%)
Hexanique	/	/	/	/	/	/
Ether de pétrole	4,884	1,722	21,434	0,992	/	/
Butanolique	4,414	0,943	21,712	16,204	/	/
Chloroformique	4,402	0,384	/	/	/	/
Acétate d'éthyle	4,993	3,61	21,738	1,269	24,598	1,033
Méthanolique	4,304	5,236	21,702	27,088	/	/
Ethanolique	4,408	2,569	21,752	27,978	/	/
Aqueux	4,294	1,739	20,965 22,142	0,853 4,782	/	/

A la lumière des résultats obtenus, on remarque que les différents E.M.Ls renferment plusieurs types de flavonoïdes avec des proportions très variés.

L'extrait qui contient une quantité importante de flavonol de type rutine hydrate est l'extrait éthanolique avec 27,978 % suivi par l'extrait méthanolique avec 27,088 % et l'extrait butanolique avec 16,204 %.

Tandis que les autres extraits relèvent un pourcentage très faible qui se situe entre 4,782 et 0 %.

L'acide phénolique de type acide gallique (aglycone libre), est moins fréquent que la rutine, il est présent dans les extraits du chloroforme du butanol, de l'éther de pétrole, aqueux, de l'éthanol, de l'acétate d'éthyle, ainsi que l'extrait

méthanolique mais avec des taux très faibles qui sont de l'ordre de 0,384 0,943 - 1,722 - 1,739 - 2,569 - 3,61 - 5,236 %.

Par ailleurs, la quercétine, est présente uniquement dans l'extrait de l'acétate d'éthyle avec un taux très faible de 1,033 %.

Les résultats de la présente étude sont en accord avec les travaux réalisés par MLADENOVIC et *al.*, [185], qui ont montré que l'extrait éthanolique de *D. carota* cultivée en Serbie renferme une très petite portion d'acide gallique (environ 0,09 mg/g), avec l'absence totale de la quercétine.

Ainsi que, PAVLYUK et *al.*, [187], ont montré que parmi les composés identifiés dans l'extrait hydro-éthanolique à 70 % des graines de *D. carota*, la rutine est dominante avec 148,05 ppm et 3,63 ppm uniquement dans l'extrait éthanolique à 40 %.

#### 6.4.2. Analyse qualitative des E.M.Ls de *T. numidicus* par la HPLC

Les chromatogrammes des E.M.Ls de *T. numidicus* sont représentés dans les figures ; 6.14 - 6.15 - 6.16 - 6.17 - 6.18 - 6.19 - 6.20 et 6.21.

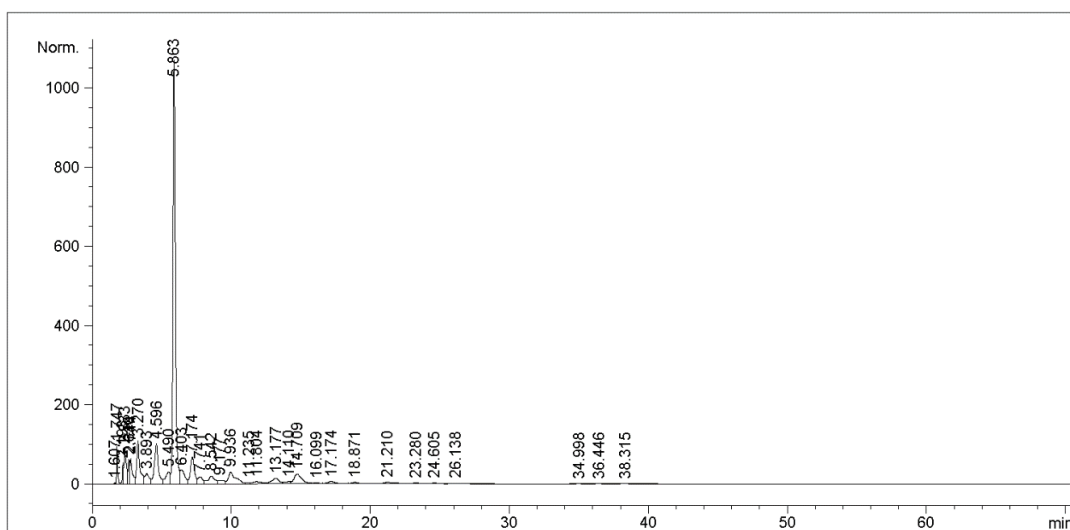
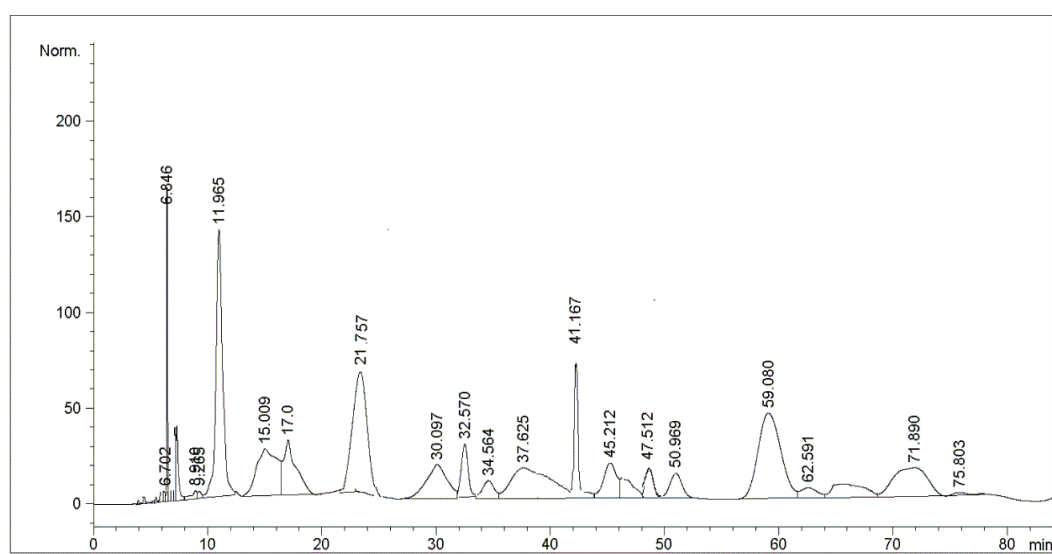


Figure 6. 14 : Profil chromatographique de l'extrait hexanique de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm



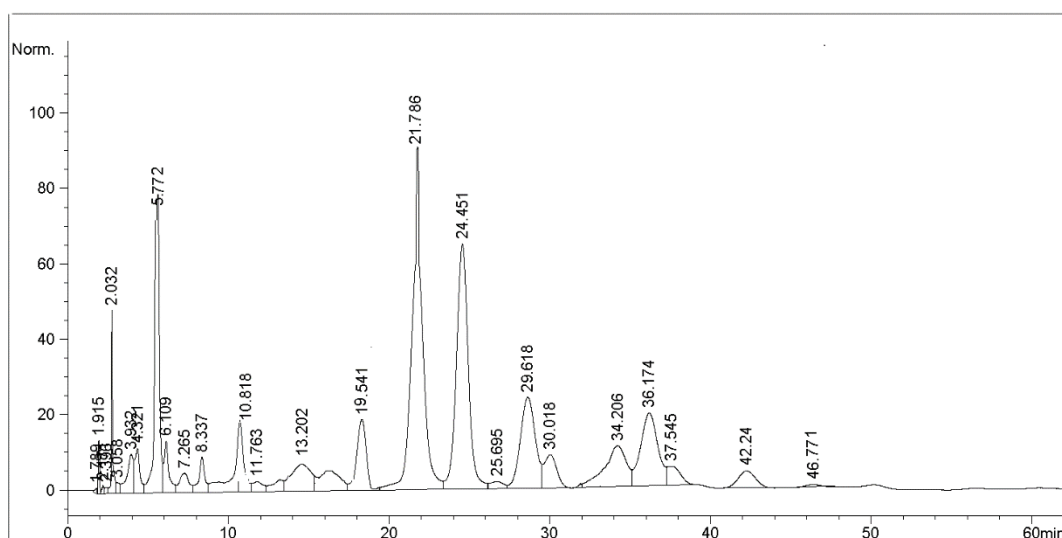


Figure 6.16 : Profil chromatographique de l'extrait butanolique de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm

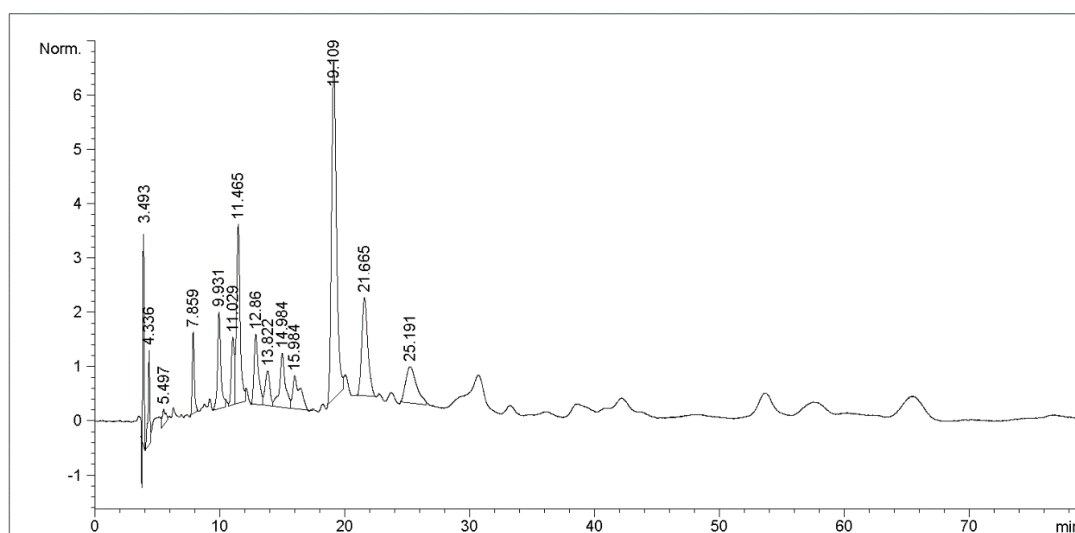


Figure 6.17 : Profil chromatographique de l'extrait chloroformique de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm

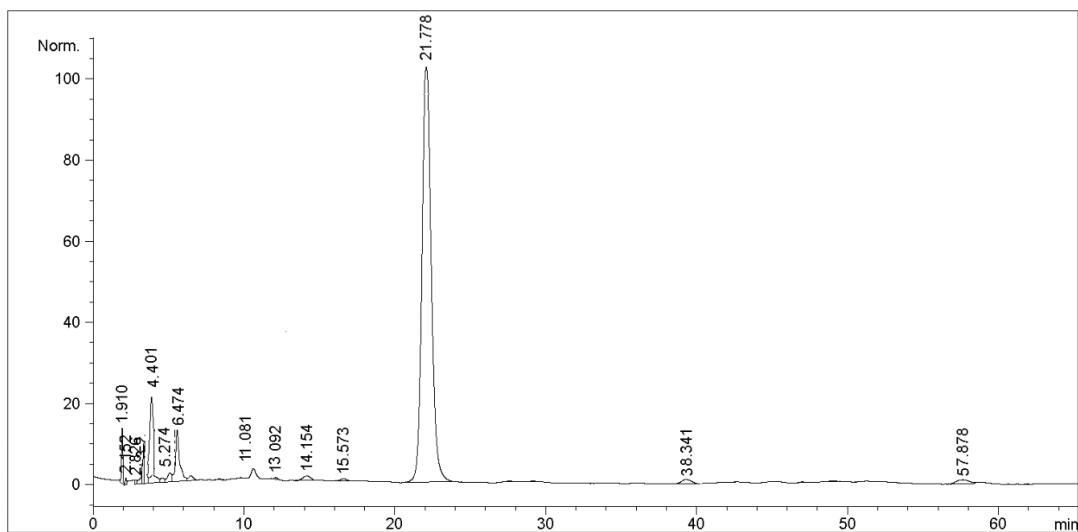


Figure 6.18 : Profil chromatographique de l'extrait de l'acétate d'éthyle de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm

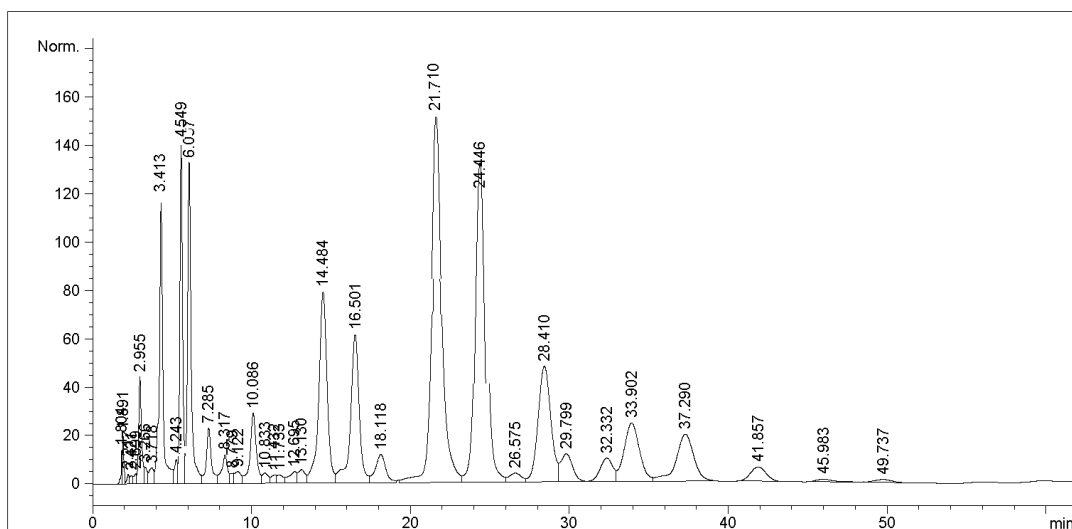


Figure 6.19 : Profil chromatographique de l'extrait méthanolique de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm

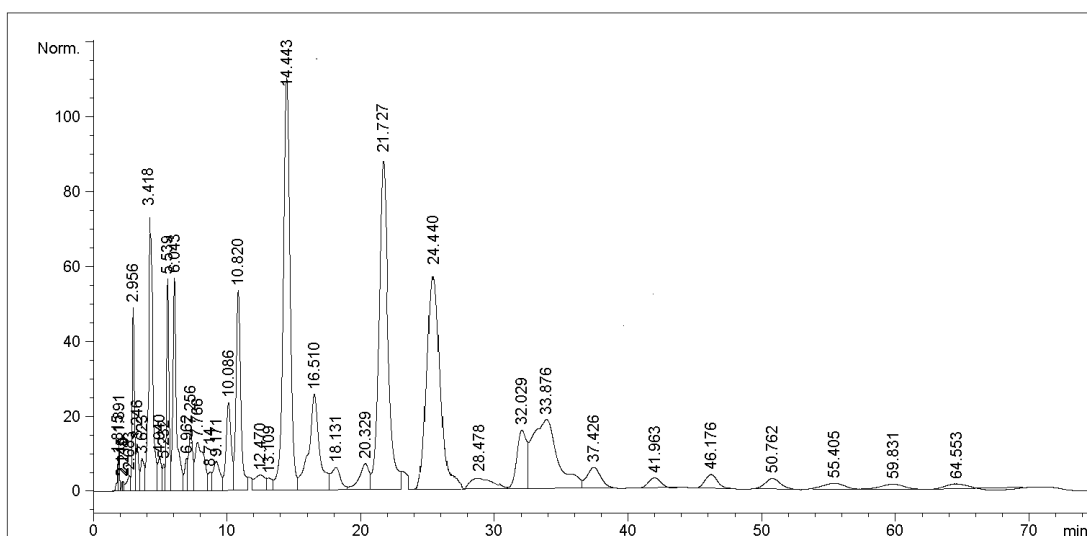


Figure 6.20 : Profil chromatographique de l'extrait éthanolique de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm

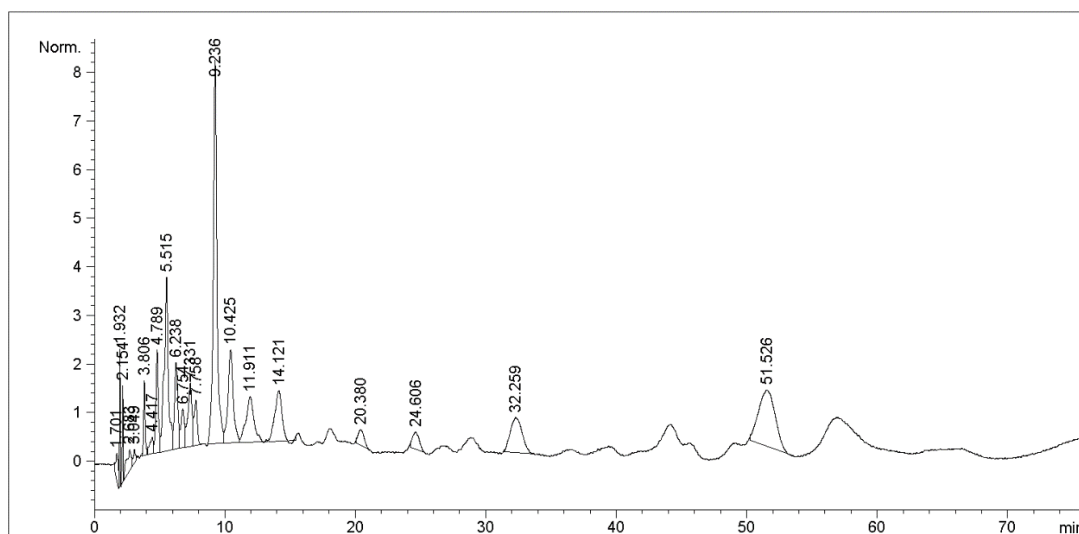


Figure 6.21 : Profil chromatographique de l'extrait aqueux de *T. numidicus* à  $\lambda = 365$  nm

Les résultats de la comparaison des temps de rétention entre les chromatogrammes des étalons et les chromatogrammes de chaque E.M.Ls de *T. numidicus* sont renseignés dans le tableau 6.5.

Tableau 6.5 : Teneur en acides phénoliques (acide gallique), hétérosides (rutine hydrate) et aglycones libres (quercétine) dans les différents E.M.Ls de *T. numidicus*

Etalons tps de rétention (min)  Extraits (T.N)	Acide phénolique Acide gallique 4,4		Hétéroside Rutine hydrate 21,7		Aglycone libre Quercétine 24,4	
	Tps de rétention (min)	Teneur relative (%)	Tps de rétention (min)	Teneur relative (%)	Tps de rétention (min)	Teneur relative (%)
Hexanique	4,596	0,369	21,21	Traces	24,605	Traces
Ether de pétrole	/	/	21,757	2,256	/	/
Butanolique	4,321	1,331	21,786	18,6	24,451	16,71
Chloroformique	4,336	1,151	21,665	2,676	/	/
Acétate d'éthyle	4,401	1,414	21,778	5,589	/	/
Méthanolique	4,243 4,243	0,523 5,141	21,710	26,416	24,446	11,68
Ethanolique	4,549	4,94	21,752	23,523	24,440	23,876
Aqueux	4,417 4,789	0,858 3,882	/	/	24,606	1,813

A la lumière des résultats obtenus, on remarque que les différents E.M.Ls renferment plusieurs types de flavonoïdes à des proportions très variées.

D'après BENAYACHE et *al.*, [107], plusieurs flavonoïdes ont été isolés à partir de la macération des parties aériennes de *T. numidicus* récoltées à Constantine dans le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle, et le butanol. Il s'agit du cirsilineol, du circimaritine, de l'apigénine, de la lutéoline, de l'apigénine 7-O-b-glucopyranoside et de la lutéoline 7-O-B-glucopyranoside.

Un flavonoïde de type flavone a été identifié par BENAYACHE et *al.*, [108], dans les feuilles de *T. numidicus* récoltées à Constantine.

Quant à ZEGHIB [181], a prouvé la présence de deux acides phénols à savoir l'acide rosmarinique avec 10,61 % et le rosmarinat de méthyle avec 44,02 % dans la fraction méthanolique des feuilles de *T. numidicus* récoltées à Constantine.



Tandis que l'extrait de l'acétate d'éthyle contient quatre polyphénols dont un flavone (5,54 % de lutéoline), un flavonol (0,64 % de quercétine) et des acides phénols (15,53 % de rosmarinate de méthyl et 25,12 % d'acide rosmarinique). Par ailleurs GEORGIU et *al.*, [182], ont indiqué que le *T. numidicus* représente plusieurs type de flavonoïdes tels que le 8-méthoxy-cirsilineol, l'ériodictyol, la naringénine, ainsi que le norlisoprénoïde (3S, 5R)-loliolide pour la première fois.

Cependant BENKINIOUAR et *al.*, [188], ayant travaillé sur les extraits alcooliques obtenus à partir des parties aériennes de *T. numidicus* provenant d'El Kala, ont pu identifier cinq flavonoïdes de type aglycones à savoir l'apigénine, le xanthomicrol, le lutéoline, le sideritoflavone et le 5-Desmethyl-sinensétine.

D'après les résultats obtenus, on confirme que les deux plantes étudiées renferment des polyphénols et des flavonoïdes en quantités importantes et similaires aussi. Ils montrent que les extraits alcooliques renferment des taux très importants en polyphénols de type flavonoïde, car ils sont très solubles dans les alcools les plus polaires.

Selon BRUNETON [16], WOJCIKOWSKI [189] et BEHIDJ et *al.*, [190], les solvants polaires sont très efficaces dans l'extraction des fractions polyphénoliques.

De ce fait, les solvants les plus polaires ont un plus grand rendement en polyphénols par rapport aux solvants les moins polaires.

D'après BRUNETON [16], MARTINI et SEILLER [41], la PHARMACOPEE RUSSE [142] et BOURGOU et *al.*, [191], l'eau est un solvant non sélectif qui extrait les polyphénols, les lectines, et les peptides.

Tandis que les alcools ont la particularité d'extraire les polyphénols, les alcaloïdes, ainsi que les stérols. Cependant le chloroforme extrait les terpénoïdes et les flavonoïdes, quant à l'éther de pétrole extrait les alcaloïdes et les coumarines. Par contre l'acétate d'éthyle, il extrait les hétérosides flavoniques et l'hexane extrait les glycosides.

En effet, les résultats de la présente étude sont proches de ceux cités dans la littérature par plusieurs auteurs à l'exception de quelques variations dans les proportions des constituants des extraits végétaux. Ces variations sont dues

principalement aux méthodes d'extraction, aux stades phénologiques des plantes, ainsi qu'aux conditions abiotiques.

#### 6.5. Huiles essentielles de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Les H.Es sont extraites par hydrodistillation à partir des parties aériennes de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*.

Selon PARIS et MOYSE [13], les végétaux à l'état frais sont riches en eau qui représente généralement la moitié ou plus du poids de la plante. Cependant un taux d'humidité élevé n'est pas toujours recherché. En effet plusieurs études ont montré que le rendement en H.E est inversement proportionnel au taux d'humidité du fait que ce rendement est en fonction de la durée de séchage des plantes.

##### 6.5.1. Cinétique et rendement d'extraction en l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

La cinétique d'extraction des H.Es a été réalisée par hydrodistillation pour déterminer et optimiser la durée exacte de l'opération, et ceci dans le but de gagner aussi bien le temps que l'énergie (Tableau 6.6).

Tableau 6.6 : Cinétique d'extraction de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

<b>Numéro de tube (D.C)</b>	<b>Temps (min)</b>	<b>Rendement (%)</b>
<b>1</b>	0	0,00
<b>2</b>	5	0,35
<b>3</b>	10	0,80
<b>4</b>	15	1,33
<b>5</b>	30	1,90
<b>6</b>	45	2,48
<b>7</b>	60	3,13
<b>8</b>	90	3,53
<b>9</b>	120	3,64
<b>10</b>	150	3,64
<b>11</b>	180	3,65
<b>12</b>	240	3,65

A partir des résultats présentés dans le tableau 6.6, on a tracé la courbe de l'évolution de la quantité de l'H.E extraite en fonction du temps (Figure 6.22).

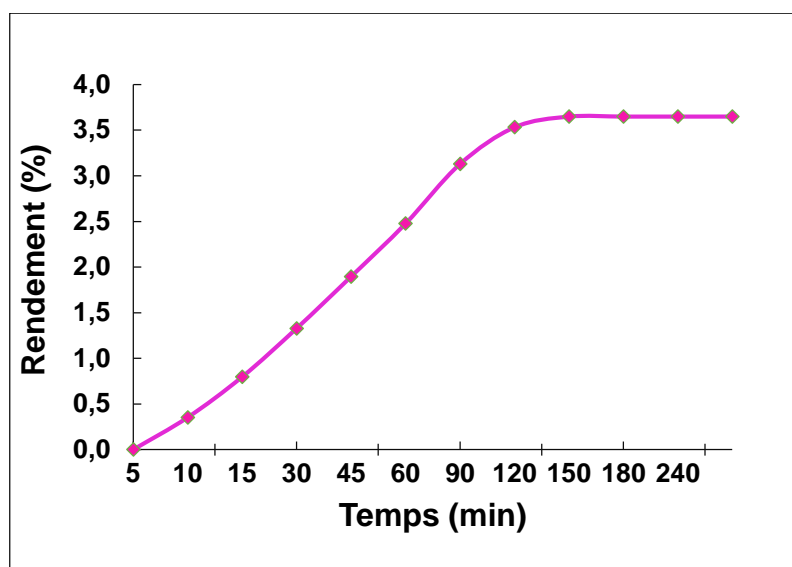


Figure 6.22 : Courbe de la cinétique d'extraction de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

Ainsi, à partir de la courbe illustrée dans la figure 6.22, on constate que la plus grande quantité de l'H.E extraite est obtenue après 45 min du commencement de l'extraction, ce qui correspond à un rendement de 2,48 %, c'est-à-dire plus de 50 % de la quantité de l'H.E est extraite en 45 min seulement.

Après ce temps, l'évolution de la quantité de l'H.E extraite diminue, jusqu'à atteindre son maximum de 3,64 après 2 h et uniquement et 3,65 % après 3 h d'extraction.

En effet, après 2 et 3 h d'extraction, le rendement en H.E reste presque constant, il passe de 3,64 à 3,65 % seulement, avec un taux d'humidité de 64 %.

A la lumière de ces résultats, on a pu optimiser la durée d'extraction de l'H.E à l'échelle pilote à une durée correspondant à 2 h et 30 min.

Une étude menée par MAXIA et *al.*, [105], a estimé un rendement de 0,7 % en H.E obtenue à partir de l'hydrodistillation des ombelles en pleine floraison de *D. carota* ssp. *carota* provenant du Portugal. Tout en adoptant la même méthode d'extraction pour les ombelles mures qui contiennent des graines, ce taux est de 1 %. Alors que l'extraction par CO<sub>2</sub> super critique donne un taux de 3,3 % concernant les ombelles mures et 0,6 % pour les ombelles en pleine floraison.

Selon DJARRI et *al.*, [192], un rendement de 0,4 % en H.E est obtenue par hydrodistillation des parties aériennes récoltées pendant la floraison de *D. reboudii* appartenant à El Taref (El Kala-Algérie).

Par contre, GLISIC et *al.*, [193], ont signalé un taux de 1,17 % en H.E extraite par le CO<sub>2</sub> super critique à partir des graines de *D. carota* récoltée au Nord de la Serbie.

Ainsi IMAMU et *al.*, [194], ont trouvé un taux de 2,2 % pour l'H.E extraite par hydrodistillation à partir des graines de *D. carota* ssp. *sativa* d'Ouzbékistan.

Ceci concorde avec les travaux de CHIZZOLA [195], qui a démontré que les rendements en H.E extraite par hydrodistillation à partir des racines de *D. carota* ssp. *carota* de Vienna (Australie) sont compris entre 0,1 et 0,2 %, entre 0,1 et 0,3 % pour les feuilles. Tandis que les fruits, renferment 0,8 à 1,6 %.

Ainsi, la plus faible valeur de 0,3 % a été mentionnée par EL KOLLI et *al.*, [196], ayant travaillé en Algérie sur les parties aériennes de *Daucus gracilis*.

Selon BENDIABDELLAH et *al.*, [197], l'H.E de *D. carota* ssp. *hispanicus* Gouan de Tlemcen (Algérie) obtenue par hydrodistillation présente des rendements différents selon la partie extraite. Ces rendements sont respectivement de 2,2 - 2,1 - 1,6 - 0,4 et 0,1 % pour les parties aériennes, les fleurs, les feuilles, les racines et les graines.

VERMA et *al.*, [198], ont signalé des valeurs différentes de rendement pendant les phases de floraison et de fructification à savoir ; 1,8 % pour les graines jeunes, 1,5 % pour les graines vertes, 1,3 % pour les graines marron clair et 1,1 % pour les ombelles en pleine floraison. Tandis que les graines mures ont donné un rendement de 0,7 % seulement, et ce pour toutes les H.Es obtenues extraites par hydrodistillation à partir de *D. carota* ssp. *sativus* récoltée à Foothilis en Inde.

BEHIDJ et *al.*, [199], ont noté que les H.Es obtenues par hydrodistillation des ombelles de *D. carota* récolées à Bouira (Algérie), renferment un taux important d'H.Es qui est de l'ordre de 4,65 %.

D'après MSAADA et *al.*, [200], l'accumulation de l'H.E dans les graines au stade jeune est plus importante comparée aux derniers stades de développement.

#### 6.5.2. Caractérisations organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

Par manque de données sur l'espèce étudiée, l'analyse des différentes propriétés organoleptiques et physicochimiques a été comparée par rapport au genre *Daucus* appartenant à des régions différentes.

Les résultats des propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E extraite à partir des ombelles de la carotte sauvage sont renseignés dans le tableau 6.7.

Tableau 6.7 : Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

Propriétés organoleptiques et physico-chimiques (D.C)		La présente étude -2018 Aith-Laaziz (Bouira) Ombelles	BEHIDJ et <i>al.</i> , [199] (Bouira) Sour El Ghozlane Ombelles	MOHAMMEDI et <i>al.</i> , 2012-[106] (Alger) Ombelles	STANISZESKA et <i>al.</i> , [104] Pologne Ombelles	AFNOR [42] Graines
Propriétés organoleptiques	Aspect	Liquide limpide	Liquide mobile limpide	/	/	Liquide limpide
	Couleur	Jaune Or	Jaune, Or foncé	/	/	Jaune foncé
	Odeur	Caractéristique, piquante et agréable,	Caractéristique des graines et agréable	/	/	Caractéristique, douce
Propriétés physiques à 20 °C	Densité relative	0,937	0,926	0,930	0,9701	0,900 à 0,945
	Indice de réfraction	1,487	1,429	1,464	1,4715	1,480 à 1,493
	Pouvoir rotatoire	-35,65	+0,24	+0,33	-27,0	-30 à -4
Propriétés chimiques	Indice d'ester	33	35	/	/	15 à 55
	Indice de saponification	50	45	/	/	/
	Indice d'acide	17	10	/	/	/

D'après le tableau 6.7, on remarque que les valeurs des propriétés physiques de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* citées par STANISZEWSKA et *al.*, [104], sont similaires à celles de la présente étude.

Par ailleurs, la valeur de l'indice de réfraction de la présente étude se rapproche de la valeur d'AFNOR [42], qui est de 1,480 à 1,493.

Par contre, elle est plus importante (1,487) par rapport à celles rapportées par MOHAMMEDI et *al.*, [106] et BEHIDJ et *al.*, [199], qui sont respectivement de 1,464 et 1,429.

Tandis que les valeurs de la densité relative, l'indice d'ester, l'indice de saponification, l'indice d'acide, la couleur, l'odeur et l'aspect sont semblables à celles citées dans la littérature.

Concernant la valeur du pouvoir rotatoire, elle est très faible (-35,65), elle se rapproche à celle citée par AFNOR [42], mais elle reste très différente par rapport aux valeurs obtenues par MOHAMMEDI et *al.*, [106] et BEHIDJ et *al.*, [199], qui sont respectivement de + 0,33° et + 0,24°.

### 6.5.3. Analyse de la composition chimique de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* par la CG/MS

Les résultats de l'analyse chromatographique par la CG/MS sont renseignés dans le tableau 6.8 et présentés dans la figure 6.23.

Tableau 6.8 : Composition chimique de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

Numéro de pic	Composés (D.C)	Indice de rétention	Pourcentage (%)
1	$\alpha$ -thujène	924	0,49
2	$\alpha$ -pinène	935	6,03
3	Camphène	946	0,21
4	Sabinène	969	4,33
5	$\beta$ -pinène	977	0,9
6	$\beta$ -myrcène	988	3,24
7	$\delta$ -3-carène	1008	0,29
8	P-cymène	1016	0,38
9	Limonène	1024	13,49
10	$\beta$ -ocimène	1035	0,24
11	$\gamma$ -terpinène	1046	0,42
12	$\alpha$ -terpinolène	1077	0,25
13	Linalol	1085	0,94
14	Terpinène-4-ol	1169	0,44
15	$\alpha$ -terpinéol	1177	0,13
16	Géraniol	1240	0,28
17	$\alpha$ -bornyl Acétate	1280	0,61
18	$\alpha$ -longipinène	1350	0,4
19	$\alpha$ -copaène	1371	0,3
20	Géranyl acétate	1390	12,26
21	$\alpha$ -cedrène	1404	5,27
22	Z- $\alpha$ -bergamotène	1407	0,18
23	$\beta$ -caryophyllène	1419	2,94
24	Z- $\beta$ -farnesène	1434	0,45
25	E- $\alpha$ -bergamotène	1445	0,64
26	$\beta$ -humulène	1450	1,44
27	E- $\beta$ -farnesène	1456	0,6
28	$\beta$ -cadinène	1472	1,12
29	Germacrène D	1475	9
30	$\beta$ -selinène	1485	0,22
31	Bicyclo-germacrène	1488	0,59
32	$\alpha$ -selinène	1490	0,43
33	Z- $\alpha$ -bisabolène	1492	5,43
34	$\beta$ -himachalène	1495	0,72
35	$\beta$ -bisabolène	1500	0,15
36	E- $\alpha$ -farnesène	1507	0,72
37	Germacrène A	1511	2,41
38	$\gamma$ -bisabolène	1518	2,37
39	E- $\alpha$ -bisabolène	1520	0,68
40	$\beta$ -sesquiphellandrène	1523	1,41
41	$\alpha$ -cadinène	1525	0,95
42	Caryophyllène oxide	1559	0,42
43	$\beta$ -asarone	1561	3,08
44	Aromadendrène epoxide	1565	0,22
45	Carotol	1594	10,38
46	$\alpha$ -cadinol	1630	0,49
47	$\beta$ -bisabolol	1660	0,39

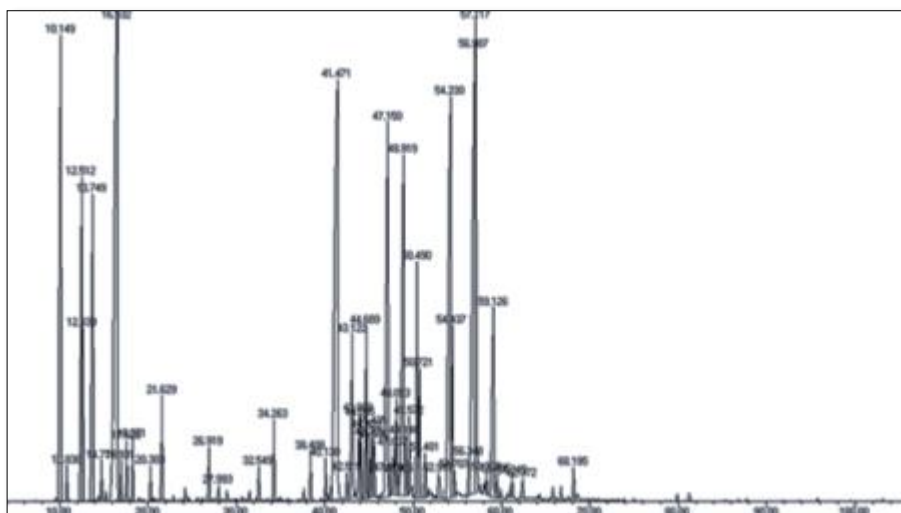


Figure 6.23 : Profil chromatographique de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*

D'après le tableau 6.8 et la figure 6.23, l'analyse par la CG/SM nous a permis d'identifier 47 composés, soit un total de 98,33 %, dont la dominance des sesquiterpènes est interprétée par 53,4 % du total des composés identifiés.

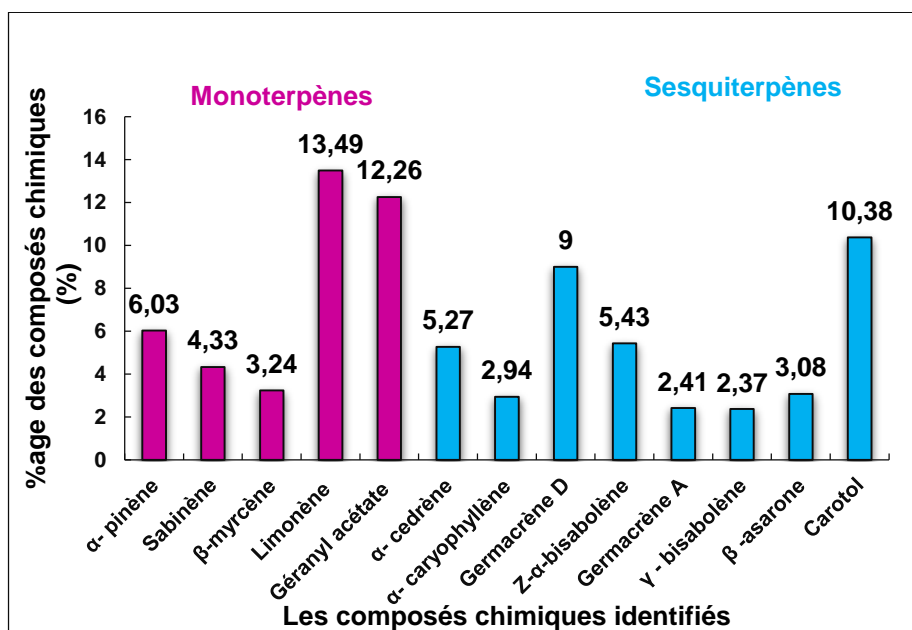


Figure 6.24 : Composés chimiques majoritaires de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*



A partir de figure 6.24, on remarque que l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* renferme une quantité considérable de sesquiterpènes (53,4 %) qui sont représentés par le carotol (10,38 %) et le germacène D (9,00 %) comme composés majoritaires, et le Z- $\alpha$ -bisabonène (5,43 %) et l' $\alpha$ -cedrène (5,27 %) autant que constituants secondaires. Tandis que le  $\beta$ -Asarone (3,08 %) le  $\beta$ -caryophyllène (2,94 %), le germacène A (2,41 %) et le  $\gamma$ -bisabolène (2,37 %) sont faiblement présents.

Parmi les monoterpènes majoritaires identifiés, on cite le limonène (13,49 %) et le géranyl acétate (12,26 %). Ainsi, l' $\alpha$ -pinène (6,03 %), le sabinène (4,33 %) et le  $\beta$ -myrcène, (3,24 %) sont moyennement présents. Ces monoterpènes sont représentés par 44,93 % sur l'ensemble des constituants chimiques de cette H.E (Figure 6.24).

Les études réalisées sur l'H.E de *D. carota* ont montré une grande diversité dans sa composition chimique selon l'espèce, l'habitat écologique et les différentes parties de la plante étudiées.

D'après STANISZEWSKA *et al.*, [104], l'H.E des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* de Pologne est composée essentiellement de monoterpènes hydrocarbonés (84,0 %), dont la dominance de l' $\alpha$ -pinène (42 %) et le sabinène (19,5 %).

MAXIA *et al.*, [105], ont indiqué que l'H.E des ombelles florales et les ombelles mures qui contiennent des graines de *D. carota* ssp. *halophilus* originaire d'Italie et du Portugal, obtenues par deux procédés d'extraction différents à savoir le CO<sub>2</sub> super critique et l'hydrodistillation présentent une importante variabilité dans leur composition chimique. Cette variabilité est en fonction du mode d'extraction et de l'origine géographique de la plante récoltée.

L'analyse de l'H.E de la même espèce en provenance d'Italie, montre que dans les mêmes conditions opératoires, ces auteurs ont obtenu une composition de 78,5 % de sesquiterpènes pour les ombelles florales dont 17,6 % de  $\beta$ -bisabolène et 25 % de carotol. Tandis que pour les ombelles avec graines 73,6 % de sesquiterpènes soit 51 % de  $\beta$ -bisabolène et 10 % de (E)-caryophyllène.

MOHAMMEDI et al., [106], ont noté que l'H.E des ombelles florales de la carotte sauvage d'Alger se distingue par les monoterpènes avec deux composés majoritaires soit le  $\beta$ -pinène (21,1 %) et le limonène (19,8 %). Tandis que le myrcène (8,8 %) et 6,7 % d'asarone (sesquiterpènes) sont faiblement représentés.

DJARRI et al., [192], ont indiqué que l'H.E des parties aériennes de *D. reboudii* récoltées à El Taref (El Kala-Algérie), renferment une quantité importante de monoterpènes, soit 84,2 % composés essentiellement de 39,7 % d' $\alpha$ -pinène et de 21,2 % de sabinène. Tandis que les sesquiterpènes sont faiblement présents avec 2,9 % seulement.

Il est à signaler que BENDIABDELLAH et al., [197], ont montré que les H.Es de *D. carota* ssp. *hispanicus* Gouan en provenance de différentes régions de Tlemcen (Algérie) présentent des phénylpropanoïdes en abondance avec des taux de 83,8 % de myristicine dans les fleurs, 80,2 % dans les feuilles, 66,9 % dans les tiges et 73,2 % dans les parties aériennes. Par contre dans les racines l'apiol est représenté par 80,3 % et le myristicine par 16,6 % seulement.

VERMA et al., [198], ont noté que l'H.E obtenue à partir des ombelles de *D. carota* ssp. *sativus* de l'Inde renferment majoritairement des monoterpènes à savoir 41,2 % d' $\alpha$ -pinène, 14,1 % de myrcène, 12,7 % de limonène.

D'après BEHIDJ et al., [199], l'analyse chimique de l'H.E des sommités fleuries de *D. carota* récoltées à Sour El Ghozlane (Algérie), a fait ressortir les monoterpènes comme élément majoritaire avec 2 composants dominants, l' $\alpha$ -pinène (22,3 %), et le limonène (15,8 %). Le carotol avec 21,7 % comme sesquiterpène dominant.

D'après les analyses chimiques de l'H.E des graines de *D. carota* ssp. *maximus* de Akar (Liban) faites par SAAD et al., [201], l'H.E obtenue contient une portion importante de phénylpropanoïdes (56,84 %) et de sesquiterpènes aussi (41,83 %), qui sont composés de essentiellement de 37,2 % de trans-méthylisoeugenol, 34,70 % de  $\beta$ -bisabolène et 17,65 % de  $\beta$ -asarone. Les feuilles et les tiges de cette espèce sont principalement riches en sesquiterpènes avec respectivement 52 et 80 %, les feuilles renferment 17,95 % de preisocalamendiol,

16,84 % de shyobunone et 12,72 % de  $\beta$ -cubenène. Alors que les tiges contiennent du shyobunone à 24,33 % et du preisocalamendiol à 3,69 %.

ÖZCAN et *al.*, [202], ayant travaillé sur l'H.E des graines de *D. carota* cultivées au Konya (Turquie), ont montré que les principaux constituants sont des sesquiterpènes, essentiellement le carotol à 66,78 %. Tandis que les autres composés représentent un taux faible tels que le daucène (8,74 %), le (Z, Z)- $\alpha$ -farnesène (5,86 %), le germacrène D (2,34 %), le trans- $\alpha$ -bergamotène (2,41 %) et le  $\beta$ -selinène (2,20 %).

TAVARES et *al.*, [203], ont signalé la présence des monoterpènes en quantité majoritaire dans l'H.E obtenue à partir des ombelles en floraison et des ombelles mures de *D. carota* ssp. *halophilus*, dans deux sites éloignés en Portugal (Cabo de S. Vicente et Arrifana).

Concernant, l'H.E de Cabo de S. Vicente, le sabinène est majoritaire avec 28,3 % dans les ombelles en floraison, et 27,6 % dans les ombelles mures. L' $\alpha$ -pinène à 12,6 % dans les ombelles en floraison et 10,1 % dans les ombelles mures. Par contre le limonène est à 11,8 % dans les ombelles en floraison et à 6,5 % dans les ombelles mures.

Tandis que l'H.E appartenant à Arrifana, les ombelles en floraison possèdent 33,8 % de sabinène et les ombelles mures comportent 29 %. 16 % d' $\alpha$ -pinène dans les ombelles en floraison et 12,2 % dans les ombelles mures. Suivi par le limonène à 11 % pendant la floraison et 5,5 % dans les ombelles mures.

En effet, ces mêmes auteurs ont signalé que l'H.E extraite par hydrodistillation des ombelles mures portugaises avec des graines, est constituée en majorité de 88 % de monoterpènes, dont les composants principaux sont le géranyl acétate (65,0 %) et l' $\alpha$ -pinène (13,0 %). Tandis que les H.Es des ombelles en floraison contiennent l' $\alpha$ -pinène et le géranyl acétate qui sont aussi des composés principaux avec respectivement 37,9 et 15,0 % sur un total de 73,7 % de monoterpènes.

SOKOVIC et *al.*, [204], ont prouvé une grande diversité dans la composition chimique de l'H.E des ombelles florales de *D. carota* de la Serbie. Les

monoterpènes sont majoritaires avec l' $\alpha$ -pinène (51,23 %), le limonène (9,59 %) et le sabinène (8,62 %).

Pour MARZOUKI et *al.*, [205], qui ont travaillé sur les H.Es des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* récoltées en Tunisie dans deux différents étages bioclimatiques. Il s'agit de Sejnane se situant dans l'étage bioclimatique humide et Tunis faisant partie de l'étage bioclimatique sub-humide.

Ces auteurs ont montré que les H.Es obtenues présentent une grande variabilité chimique dans leur composition selon l'origine géographique ainsi que le procédé d'extraction. Ils ont mentionné aussi que l'H.E de Sejnane obtenue par hydrodistillation se caractérise par la dominance des sesquiterpènes représentées par un total de 65,3 % avec 12,7 % de 11- $\alpha$ -(H)-Himacal-4-en-1- $\beta$ -ol<sup>a,b</sup> et 7,4 % d' $\alpha$ -selinène. Tandis que l'H.E extraite par le CO<sub>2</sub> super critique contient 73,1 % de sesquiterpènes avec des taux relativement différents de composés majoritaires soit (17,4 % de 11- $\alpha$ -(H)-Himacal-4-en-1- $\beta$ -ol<sup>a,b</sup>), et des monoterpènes (12 % d' $\alpha$ -pinène).

Par contre, l'H.E appartenant à la région de Tunis extraite par hydrodistillation dispose d'une teneur importante de sesquiterpènes (55,5 %) soit 48 % de carotol, et aussi 31,5 % des phénylpropanoïdes. Aussi, l'H.E obtenue par le CO<sub>2</sub> super critique présente des quantités remarquables de 60,5 % de sesquiterpènes avec 55,5 % de carotol, ainsi que 35,5 % de phénylpropanoïdes. De ce fait, on constate que les teneurs en composés majoritaires des H.Es obtenues à partir de ces deux modes d'extraction se rapprochent, car elles ne présentent pas une grande différence dans leur composition chimique.

Selon ROKBENI et *al.*, [206], les H.Es des graines prélevées dans dix populations sauvages de *D. carota*, réparties sur le Nord de la Tunisie se composent d'un total de 36 constituants avec une prédominance des sesquiterpènes dans la plupart des échantillons (de 22,63 à 89,93 %), avec des teneurs moyennes en  $\beta$ -bisabolène (39,33 %).

MELIANI et *al.*, [250], ont précisé que les H.Es obtenues par hydrodistillation à partir des feuilles et des graines de *D. carota* ssp. *carota* et *D. carota* ssp. *gummifer* appartenant à l'Algérie contiennent respectivement 26,0 - 34,1 % d' $\alpha$ -

pinène, 1,5 - 14,0 % de sabinène, 10,0 - 13,1 % de myrcène, 0,5 - 13,0 % de limonène, 0,6 - 11,2 %, de  $\beta$ -pinène (monoterpènes), et 0,8 - 6,0 % d'oxyde de caryophyllène (sesquiterpènes).

A la lumière des résultats obtenus, on remarque des variations plus ou moins importantes dans le rendement, les appropriés physicochimiques de l'H.E de *D. carota*, ainsi que les composants de cette H.E. Cette variabilité est en relation avec la région de récolte, le mode d'extraction et la partie de la plante traitée aussi. De ce fait, on déduit que les ombelles florales, les graines, les feuilles, les tiges, et les racines de *D. carota* sont dominées par les monoterpènes, les sesquiterpènes, et les phénylpropanoïdes.

#### 6.5.4. Cinétique et rendement d'extraction de l'H.E de *T. numidicus*

Dans le but de déterminer la cinétique d'extraction de l'H.E de *T. numidicus*, on a opté pour la méthode d'hydrodistillation (Tableau 6.9).

Tableau 6.9 : Cinétique d'extraction de l'H.E de *T. numidicus*

<b>Numéro de tube (T.N)</b>	<b>Temps (min)</b>	<b>Rendement (%)</b>
<b>1</b>	0	0,00
<b>2</b>	5	0,22
<b>3</b>	10	0,50
<b>4</b>	15	0,84
<b>5</b>	30	1,26
<b>6</b>	45	1,75
<b>7</b>	60	2,27
<b>8</b>	90	2,57
<b>9</b>	120	2,61
<b>10</b>	150	2,61
<b>11</b>	180	2,61
<b>12</b>	240	2,61

D'après les résultats présentés dans le tableau 6.9, on a tracé la courbe de l'évolution de la quantité de l'H.E extraite en fonction du temps (Figure 6.25).

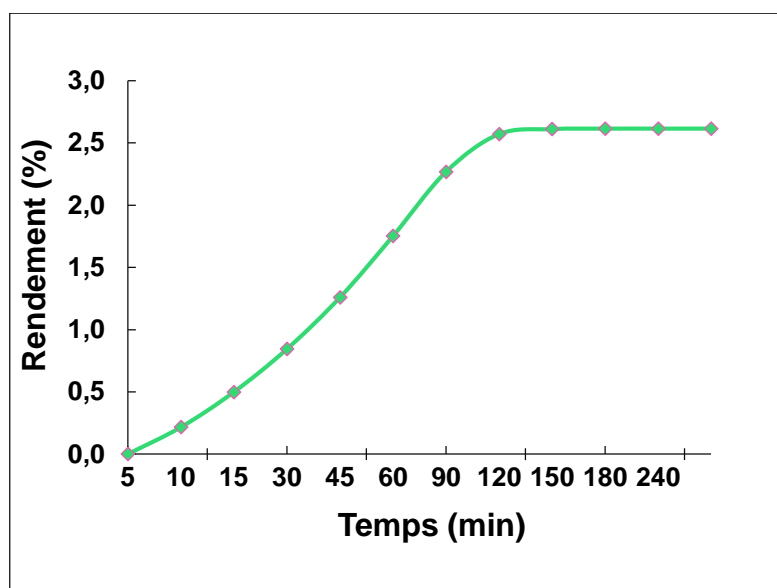


Figure 6.25 : Courbe de la cinétique d'extraction de l'H.E de *T. numidicus*

La figure 6.25, montre qu'après 60 min d'extraction, le rendement en l'H.E est de 2,57 %, soit plus de la moitié de la quantité totale de l'H.E obtenue.

Ce taux augmente progressivement de 0 à 60 min. Par la suite il accroît légèrement pour atteindre son maximum de 2,61 % après 120 min seulement, notons qu'il reste stable après ce temps-là. En effet, on a enregistré un rendement en H.E de 2,61 % après 2 h d'extraction avec un taux d'humidité de 59 %.

A partir de ces résultats, la durée d'extraction de l'H.E à l'échelle pilote a été optimisée à un temps qui correspond à 2 h.

Toutefois, les travaux de SAIDJ et *al.*, [86], ont montré que l'extraction, le rendement et la composition l'H.E de *T. numidicus* sont en fonction du temps de l'extraction et des procédés de l'extraction aussi.

Ces mêmes auteurs ont précisé que le rendement en H.E obtenue par la distillation à la vapeur d'eau des feuilles sèches de *T. numidicus* récoltées à Yakouren (Algérie) est de 2,06 %.

Néanmoins, le rendement en H.E extraite à partir de la distillation à vapeur d'eau des parties aériennes fraîches de *T. numidicus* appartenant à la région de Constantine est de 1,2 % [107].

MESSARA et *al.*, [109], ont précisé que l'H.E extraite par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles sèches de *T. numidicus* récoltées à Tizi-Ouzou (Algérie) a donné un rendement de 1,58 %.

Par ailleurs, DJEDDI et *al.*, [183], ont enregistré un rendement de 1,02 % de l'H.E extraite par hydrodistillation des parties aériennes du *T. numidicus* récoltées à Annaba (Algérie).

Selon KABOUCHE et *al.*, [207], l'hydrodistillation des parties aériennes sèches de *T. numidicus* récoltées à Djebel El-Ouahch (Constantine, Nord-Est Algérien), a rapporté un rendement de 2,1 %.

Pour HADEF et *al.*, [208], le rendement en H.E de *T. numidicus* obtenu par entraînement à la vapeur d'eau des parties aériennes sèches récoltées dans la région de Annaba en Algérie est de 1,10 %.

Par contre, LAOUER et *al.*, [209], ont indiqué que les H.Es extraites par hydrodistillation à partir des parties aériennes récoltées au cours de la floraison de deux populations de *T. numidicus* dans la région de Sétif (Algérie) a donné des rendements similaires de 2,7 %.

Cependant, ZEGHIB et *al.*, [210], ont identifié un rendement de 2 % de l'H.E obtenue à partir de l'hydrodistillation des parties aériennes fraîches de *T. numidicus* récoltées à Constantine.

De même, ADRAR et *al.*, [211], ont trouvé une teneur de 1,83 % de l'H.E obtenue par hydrodistillation des feuilles et des fleurs de *T. numidicus* appartenant à Bejaia (Algérie).

KOUCH et *al.*, [212], ont signalé que l'H.E extraite par hydrodistillation à partir des feuilles de *T. numidicus* récoltées dans la région de Annaba (Algérie) a exprimé un rendement de 1,92 %.

Cependant GHORAB et *al.*, [213], ont démontré des différences non significatives concernant le rendement en H.E des feuilles de *T. numidicus* obtenue par hydrodistillation, et appartenant à plusieurs régions de l'Algérie à savoir Constantine (Nord-Est Algérien), Djebel El-Ouahch (Constantine, Nord-Est

Algérien), Azzazga (la forêt de Yakouren, Nord Central Algérien) et la région de la Kabylie (Nord Central Algérien). Ces rendements sont respectivement de 2 - 2,1 - 2,4 et 2 %.

En effet, le rendement en H.E des feuilles, des sommités fleuries et des tiges de *T. numidicus* récoltées Skikda (Algérie) a présenté des variabilités selon le mode d'extraction. De ce fait, l'H.E extraite par entraînement à la vapeur d'eau donne un rendement de 0,8 %, tandis qu'un rendement de 1,1 % est obtenu avec l'H.E extraite par hydrodistillation [214].

#### 6.5.5. Caractérisations organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E de *T. numidicus*

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E extraite à partir des feuilles de *T. numidicus* du présent travail, ainsi que les travaux ultérieurs sur le même genre et sur la même espèce sont résumés dans le tableau 6.10.

Tableau 6.10 : Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'H.E de *T. numidicus*

Propriétés organoleptiques et physico-chimiques (T.N)		La présente étude 2018 Aith-Laaziz Bouira (Algérie) Feuilles	BOUGHEN-DJIOUA et DJEDDI [214] Skikda (Algérie) Sommités fleuries, tiges, feuilles	MESSARA et al., [109] Tizi-Ouzo (Algérie) Feuilles	BENAYACHE et al., [107] Constantine (Algérie) Parties aériennes fraîches	SAIDJ et al., [86] Yakouren (Algérie) Feuilles	AFNOR [42] Thym sauvage d'Espagne <i>Thymus mastichina</i>
Propriétés organoleptiques	Aspect	Liquide mobile	Liquide	Liquide mobile limpide	Visqueux	Liquide mobile	Liquide
	Couleur	Jaune foncé	Clair, transparent Incolore à brun rougeâtre	Rouge orange	Jaune orange	Jaunâtre	Jaune pâle
	Odeur	Caractéristique, agréable	Agréable thymol Piquante	Agréable parfumé de thymol	Très forte indique la présence de thymol	Agréable aromatique avec un fon épicé	Caractéristique, agréable cinéolique, épicée
Propriétés physiques à 20 °C	Densité relative	0,916	0,9	/	0,891	0,8826	0,900 à 0,920
	Indice de réfraction	1,497	1,4830	/	1,488	1,5015	1,462 à 1,468
	Pouvoir rotatoire	- 4 à +12	/	/	/	/	- 6 à +10
Propriétés chimiques	Indice d'ester	40	/	/	/	/	/
	Indice de saponification	44,5	/	/	/	/	/
	Indice d'acide	4,50	/	/	4,52	/	/



D'après les résultats de ce tableau, l'analyse des paramètres physiques de l'H.E de *T. numidicus* de la présente étude est conforme aux résultats cités dans la littérature par plusieurs auteurs (SAIDJ et *al.*, [86], BENAYACHE et *al.*, [107], MESSARA et *al.*, [109] et BOUGHENDJIOUA, et DJEDDI [214] pour la même espèce mais dans des régions différentes de l'Algérie.

Etant donné que le *T. numidicus* est une espèce endémique de l'Afrique du Nord, les propriétés physico-chimiques de son H.E n'ont pas pu être comparées aux normes internationales. De ce fait, on les a comparés à celles de l'H.E de *T. mastichina* en provenance de l'Espagne. Les valeurs citées par AFNOR [42], correspondent aux valeurs de l'espèce étudiée.

Le rendement en H.E de *T. numidicus* ainsi que les caractéristiques physico-chimiques sont influencées par plusieurs paramètres à savoir ; l'espèce, l'endroit et la période de la cueillette et les méthodes d'extraction aussi.

#### 6.5.6. Analyse de la composition chimique de l'H.E de *T. numidicus* par la CG/MS

Les résultats de l'analyse chromatographique par la CG/MS sont représentés dans le tableau 6.11 et la figure 6.26.

Tableau 6.11 : Composition chimique de l'H.E de *T. numidicus*

N° du pic	Composés (T.N)	Indice de rétention	pourcentage (%)
1	$\alpha$ -thujène	930	0,03
2	$\alpha$ -pinène	935	0,8
3	Camphène	954	0,05
4	Sabinène	963	0,32
5	$\beta$ -pinène	970	0,17
6	1-octèn-3-ol	975	0,84
7	3-octanone	980	0,29
8	Myrcène	989	0,84
9	3-octanol	993	0,26
10	$\delta$ -3-carène	1010	0,05
11	$\alpha$ -terpinène	1017	0,07
12	p-cymène	1024	3,04
13	Limonène	1029	2,94
14	Z- $\beta$ -ocimène	1038	0,06
15	E- $\beta$ -ocimène	1049	0,04
16	$\gamma$ -terpinène	1059	0,30
17	E-linalol oxide	1065	0,34
18	Linalol	1086	25,01
19	Camphre	1128	0,20
20	Bornéol	1166	0,54
21	Z- $\beta$ -terpinéol	1196	0,11
22	E-dihydrocarvone	1201	0,09
23	Nérol	1230	0,05
24	Thymol-méthyl-éther	1232	0,23
25	Néral	1242	0,30
26	Carvacrol-méthyl-éther	1244	4,49
27	Géranol	1259	9,23
28	Thymol	1302	40,14
29	Carvacrol	1312	2,39
30	$\beta$ -bourbonène	1380	0,11
31	Géranyl acétate	1386	2,78
32	E-caryophyllène	1419	0,84
33	Germacrène	1480	0,16
34	$\beta$ -bisabolène	1507	0,56
35	$\delta$ -cadinène	1516	0,15
36	Germacène D-4-ol	1566	0,06
37	Caryophyllène oxide	1570	0,69
38	Glubulol	1576	0,07
39	T-cadinol	1634	0,05
40	T-muurulol	1636	0,06
41	$\alpha$ -cadinol	1654	0,16
42	Cadalène	1670	0,06
43	$\alpha$ -bisabolol	1679	0,07

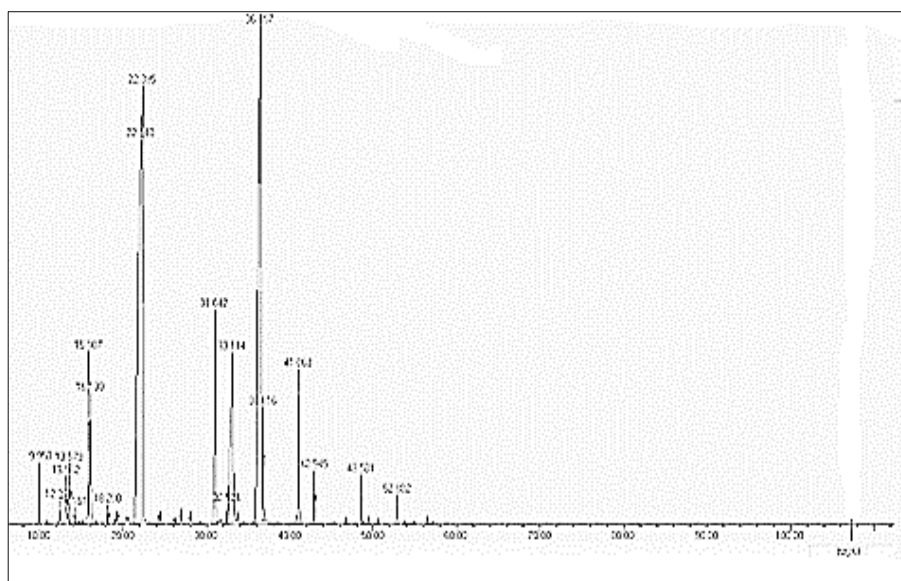


Figure 6.26 : Profil chromatographique de l'H.E de *T. numidicus*

L'analyse chromatographique de l'H.E de *T. numidicus* par la CG/MS (Tableau 6.11 et Figure 6.26) nous a permis de déterminer 43 composés, soit un total de 99,04 %, représentés par la dominance de 96 % de monoterpènes et 3,04 % de sesquiterpènes seulement.

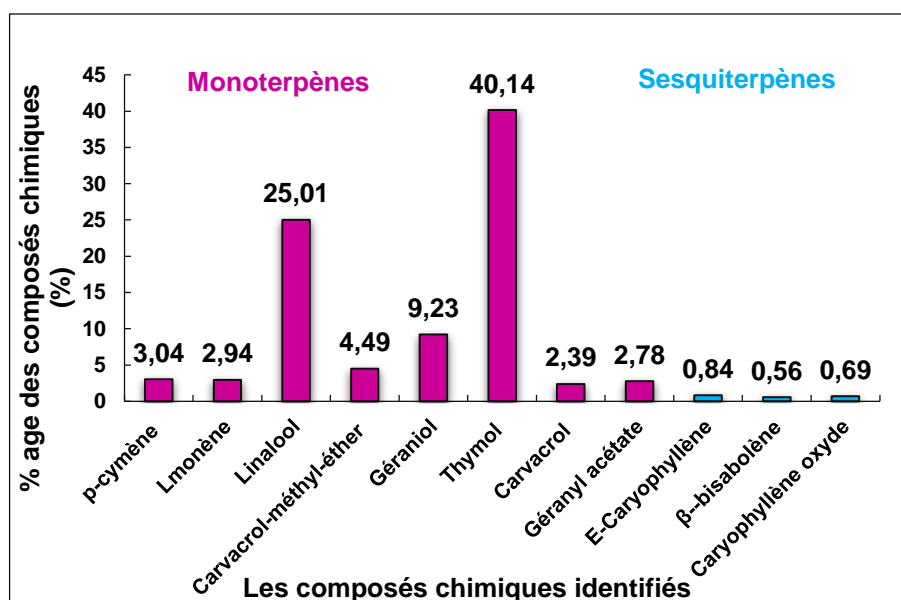


Figure 6.27 : Composés chimiques majoritaires de l'H.E de *T. numidicus*

D'après l'analyse de la figure 6.27, on remarque que l'H.E de *T. numidicus* contient comme composés chimiques majoritaires les monoterpènes qui sont représentés par 40,14 % de thymol, suivi par 25,01 % de linalol, puis 9,23 % de

géraniol, 4,49 % de carvacrol-méthyl-éther, 3,04 % de p-cymène, 2,94 % de limonène, 2,78 % de géranyl acétate et 2,39 % de carvacrol.

Les analyses chimiques de l'H.E de *T. numidicus* ont montré une variabilité au sein de la même espèce mais qui appartiennent à des endroits différents.

Selon SAIDJ et *al.*, [86], l'analyse la composition chimique de l'H.E obtenu à partir des feuilles sèches de *T. numidicus* récoltées à Yakouren (Algérie) a permis d'identifier 14 composants pour l'H.E extraite par la distillation à la vapeur d'eau et 19 composés obtenus par hydrodistillation. Par ailleurs ces deux H.Es sont représentées par le thymol (51 et 70,2 %), le carvacrol (9,4 et 7,4 %), le linalol (3,3 et 4,3 %), le thymol-méthyl-éther (3,2 et 5,9 %), l'iso-caryophyllène (2,7 et 2,3 %) et le caryophyllène-oxyde (1,8 et 1,1 %).

Cependant BENAYACHE et *al.*, [107], ont identifié 48 composants dans l'H.E des parties aériennes de *T. numidicus* extraite par distillation à la vapeur d'eau, représentés par un total de 96,5 %. Le constituant principal de cette H.E est le thymol (54,1 %), le p-cymène (15,3 %), le linalol (5,4 %), le carvacrol (3,8 %), le thymoquinone (3,7 %), l' $\alpha$ -pinène (2 %), le méthyl-éther-thymol (1,7 %) et le  $\beta$ -caryophyllène (1,8%).

En effet, MESSARA et *al.*, [109], ont indiqué que l'H.E des feuilles sèches de *T. numidicus* récoltées à Tizi-Ouzou (Algérie) extraite par entraînement à la vapeur d'eau a permis d'identifier plus de 70 composés avec 40,40 % de thymol et 13,37 % de carvacrol comme constituants majoritaires. Cette H.E a été classée comme chémotype à thymol.

Selon KABOUCHE et *al.*, [207], l'H.E obtenue à partir de l'hydrodistillation des parties aériennes sèches de *T. numidicus* récoltées à Djebel El-Ouahch (Constantine, Nord-Est Algérien), et analysée par GC/MS a permis d'identifier 40 composés représentant 99,7 % de sa composition chimique. Les monoterpènes dominant avec le thymol (68,2 %), le carvacrol (16,9 %) et le linalol (11,5 %).

D'autre part, l'hydrodistillation des parties aériennes fraîches de *T. numidicus* collectées à Constantine a permis d'obtenir une H.E composée de 33 constituants représentant un total de 98,14 % avec 23,92 % de thymol, 17,20 % de linalol, 11,41

% d'o-cymène, 10,84 % de  $\gamma$ -terpinène, 6,73 % de thymol-méthyl-éther et 6,02 % de carvacrol [210].

Quant à LAOUER et *al.*, [209], ils ont pu identifier 42 composés à partir des H.Es extraites par hydrodistillation des parties aériennes récoltées au cours de la floraison de deux populations de *T. numidicus* dans la région de Sétif (Algérie), représentés par un total de 97 %.

Ces mêmes auteurs ont précisé que les principaux composants de ces deux H.Es analysées sont le thymol (59 et 68 %), le  $\gamma$ -terpinène (8,5 et 4,2 %), le p-cymène (5,8 et 4,5 %), le carvacrol (3,7 et 4,2 %) et l' $\alpha$ -pinène (5,3 et 3,5 %).

D'après KOUCH et *al.*, [212], l'H.E extraite par hydrodistillation à partir des feuilles de *T. numidicus* récoltées dans la région d'Annaba (Algérie), a permis l'identification de 13 composants, dont le thymol (77,52 %) est l'élément majeur, le p-cymène (10,1 %), le  $\gamma$ -terpinène (6,37 %), le  $\beta$ -pinène (3,16) et en trace carvacrol (0,17 %).

65 composés ont été identifiés par BOUGHENDJIOUA et DJEDDI [214], ayant travaillé sur l'H.E extraite par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles, des sommités fleuries et des tiges de *T. numidicus* récoltées Skikda (Algérie). Cette H.E est constituée principalement par 95,70 % de composés chimiques représentés par 88,69 % de monoterpènes dont, le carvacrol (27,39 %), le thymol (22,48 %), le p-cymène (9,41 %), le  $\delta$ -3-carène (8,42 %), le  $\beta$ -pinène (5,98 %), l' $\alpha$ -terpinolène (5,81 %), le limonène (1,98 %), l' $\alpha$ -pinène (1,74 %), le  $\beta$ -cubebène (1,65 %), l' $\alpha$ -copaène (1,38 %), l' $\alpha$ -terpinène (1,35 %) et l' $\alpha$ -thujène (1,17 %).

En conclusion des travaux cités ci-dessus, on remarque que l'H.E de *T. numidicus* est caractérisée par plusieurs chémotypes avec une dominance des monoterpènes à des proportions variables.

D'après les résultats de l'étude phytochimique, on constate que les deux plantes étudiées présentent des fluctuations plus au moins importantes dans les taux de rendement en métabolites secondaires, ainsi que la composition chimique de ces derniers. Les polyphénols sont les molécules bioactives les plus dominantes, représentés essentiellement par les flavonoïdes.

En effet, conformément aux études ultérieures. L'H.E des sommités fleuries de *D. carota* ssp. *carota* est riche en terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes). Tandis que l'H.E des feuilles de *T. numidicus* est dominée par les monoterpènes qui sont représentés essentiellement par le thymol.

Selon PHILOGENE et *al.*, [3], FAROMBI [4] et BRUNETON [16], ils existent des variations entre les différentes espèces, entre les organes de la même espèce et au sein de la même espèce récoltée dans différents endroits aussi. Ces différences sont en relation étroite avec l'origine géographique, les conditions abiotiques telles que les facteurs édapho-climatiques à savoir la température, l'humidité, et la nature du sol.

En effet, les parties utilisées de la plante, ainsi que les différents stades de croissance (le stade phénologique), la période de la cueillette, la conservation du matériel végétal et les méthodes d'extraction aussi sont des facteurs qui influencent le rendement et la composition chimique des E.Vx.

#### 6.6. Etude histo-anatomique des tissus végétaux de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Dans le but de localiser les sites sécréteurs des H.Es, des coupes transversales ont été réalisées sur les tissus végétaux de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*. L'observation de ces coupes a été effectuée sous microscope photonique à différents grossissements.

##### 6.6.1. Coupe transversale de la tige de *D. carota* ssp. *carota*

L'observation de la coupe transversale de la tige de *D. carota* ssp *carota* observée sous microscope photonique (grossissement 10X40) nous a permis d'obtenir la figure 6.28.

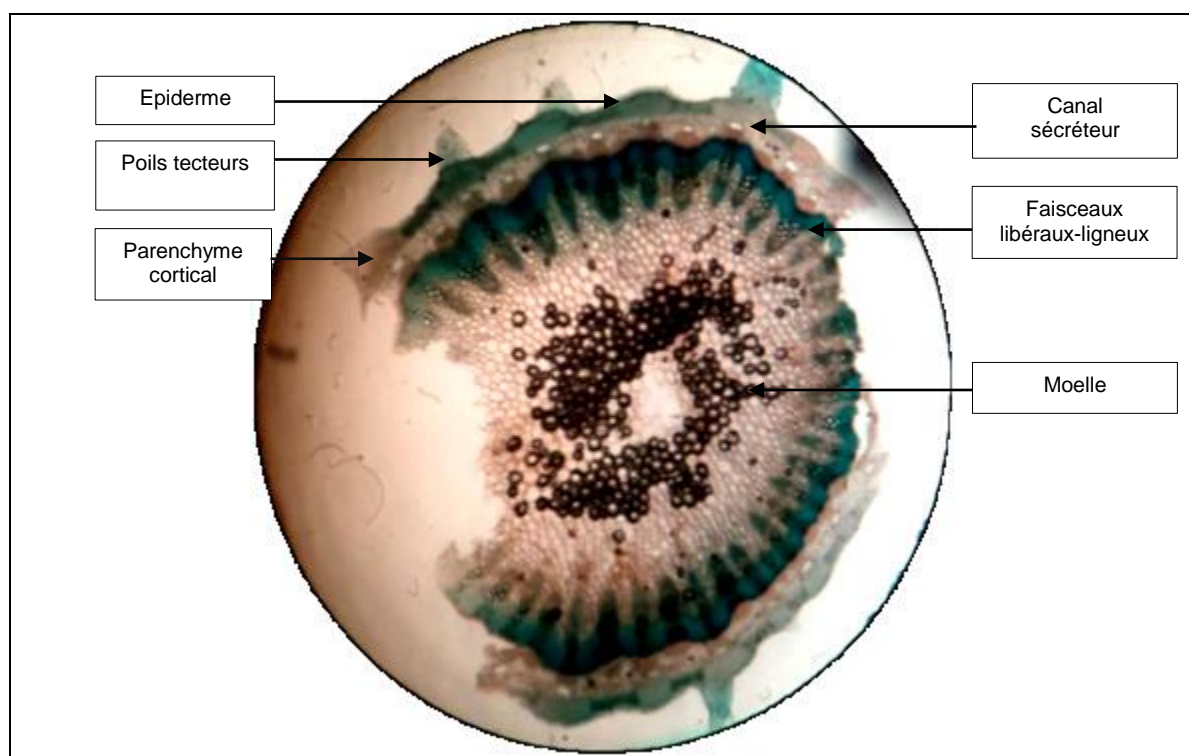


Figure 6.28 : Coupe transversale d'une portion de tige de *D. carota* ssp. *carota* observée sous microscope photonique (gr 10X10) (DPFMA, Originale : 2015)

D'après la figure 6.28, au niveau de la tige de *D. carota* ssp. *carota*, l'écorce occupe par rapport au cylindre central un espace réduit. Le rapport écorce cylindre central est inférieur à 1 et renferme de l'extérieur à l'intérieur les éléments tissus suivants :

- un épiderme riche en poils tecteurs pluricellulaires regroupés en masse,
- un parenchyme cortical à méats interrompu par un collenchyme angulaire,
- des canaux sécréteurs situés sous chaque amas de collenchyme,
- des faisceaux libéraux-ligneux (pachyte discontinue) relié par un sclérenchyme,
- et une moelle résorbée au centre constituée d'un parenchyme à méat avec de grandes lacunes au centre.

#### 6.6.2. Coupe transversale de la feuille de *D. carota* ssp. *carota*

La figure 6.29, montre l'anatomie de la feuille de *D. carota* ssp. *carota*

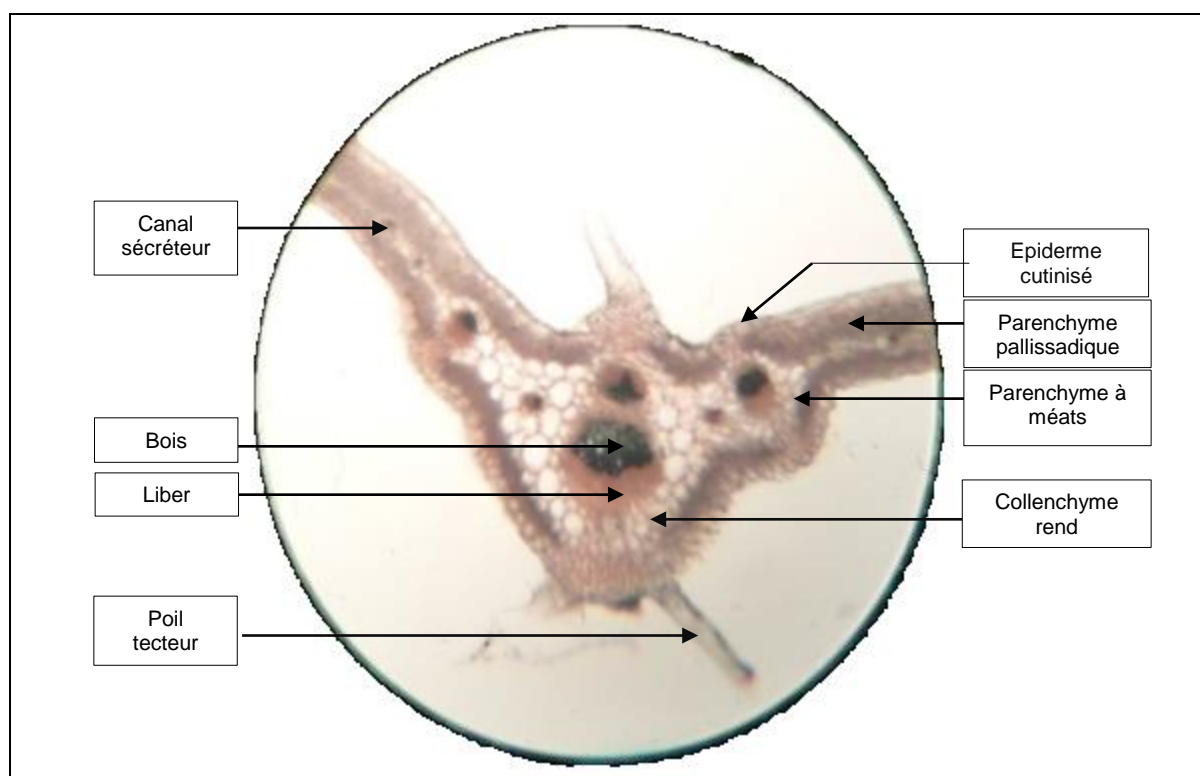


Figure 6.29 : Coupe transversale d'une portion de feuille de *D. carota* ssp. *carota* observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Originale : 2015)

Selon la figure 6.29, la coupe transversale de la feuille de *D. carota* ssp. *carota* présente une symétrie bilatérale, elle comporte de face supérieure vers la face inférieure :

Au niveau du limbe :

- un épiderme cutinisé très fin à la face supérieure avec quelques stomates à la face supérieure et plus épais à la face inférieure,
- deux assises de parenchyme palissadique sur les faces inférieure et supérieure,
- et un parenchyme à méats entre les deux parenchyms palissadiques.

Au niveau de la nervure centrale :

- un collenchyme rond,
- un canal sécréteur,
- un liber,
- un bois,
- et des poils tecteurs au niveau de l'épiderme.



### 6.6.3. Coupe transversale de la racine de *D. carota* ssp. *carota*

L'observation de la coupe de la racine de *D. carota* ssp. *carota* sous microscope photonique a permis de donner la figure 6.30.

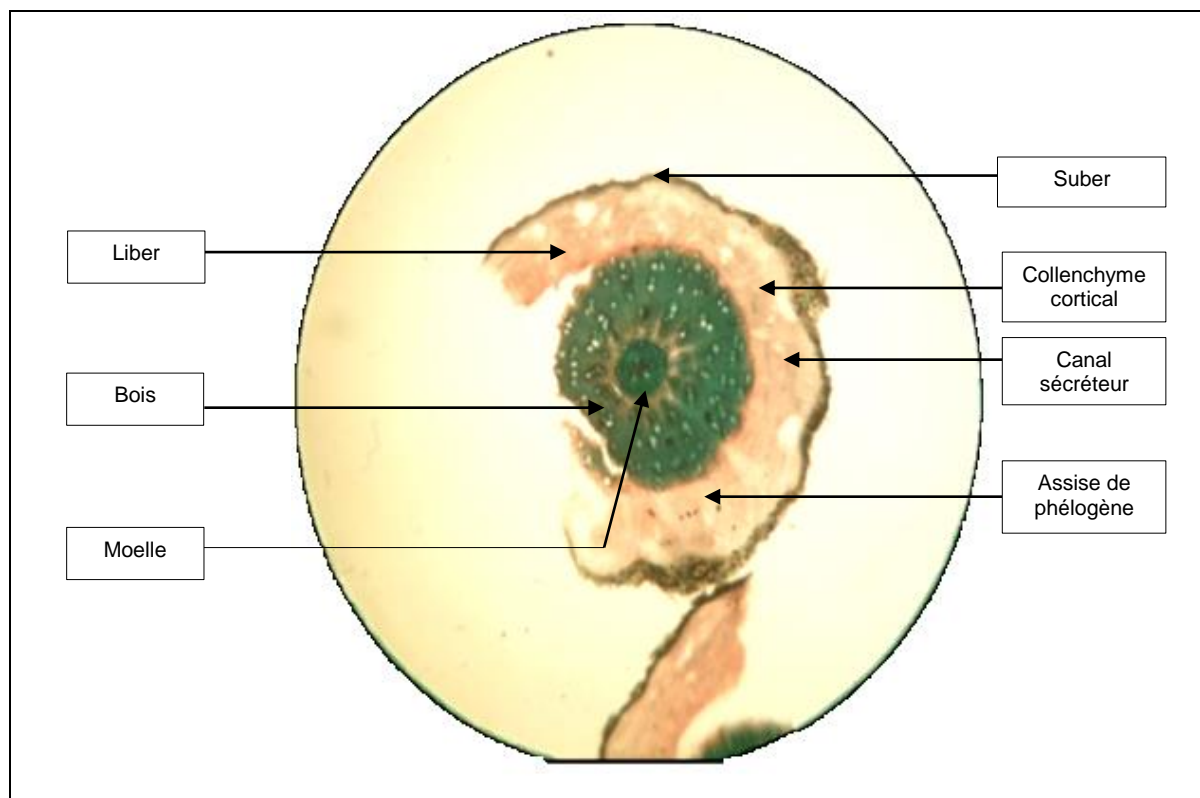


Figure 6.30 : Coupe transversale d'une portion de racine de *D. carota* ssp. *carota* observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Original : 2015)

Il ressort de la figure 6.30, que la racine comporte de l'extérieur vers l'intérieur :

- un suber avec deux à trois assises,
- un collenchyme cortical,
- des canaux sécréteurs,
- un liber,
- un bois,
- et une moelle sclérifiée réduite.

Morphologiquement la tige de *D. carota* ssp. *carota* est striée, on constate que, sur le plan histologique, ces stries correspondent à une légère proéminence des amas de collenchyme. Entre ces amas de collenchyme on trouve le parenchyme assimilateur. Cette tige ne possède pas de fibres péricycliques, son renforcement est

assuré par du sclérenchyme qui occupe tout l'espace entre les faisceaux vasculaires et au niveau de la moelle ainsi que par les amas de collenchyme.

Les coupes transversales de la tige, de la feuille et de la racine de l'espèce *D. carota* ssp. *carota*, ont montré que cette espèce fait partie des dicotylédones, possèdent des canaux sécréteurs.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de TAVARES et *al.*, [203], qui ont confirmé la présence des canaux sécréteurs au niveau du pédoncule de *D. carota* ssp. *halophilus*, ainsi que, SARAFIS et *al.*, [215], qui ont démontré qu'à plusieurs niveaux des coupes histologiques (parenchyme cortical, faisceaux vasculaires, moelle), on rencontre, comme chez les Apiaceae en général, des canaux sécréteurs schizogènes (poches).

#### 6.6.4. Coupe transversale de la tige de *T. numidicus*

La coupe transversale de la tige de *T. numidicus* est représentée dans les figures 6.31 et 6.32.

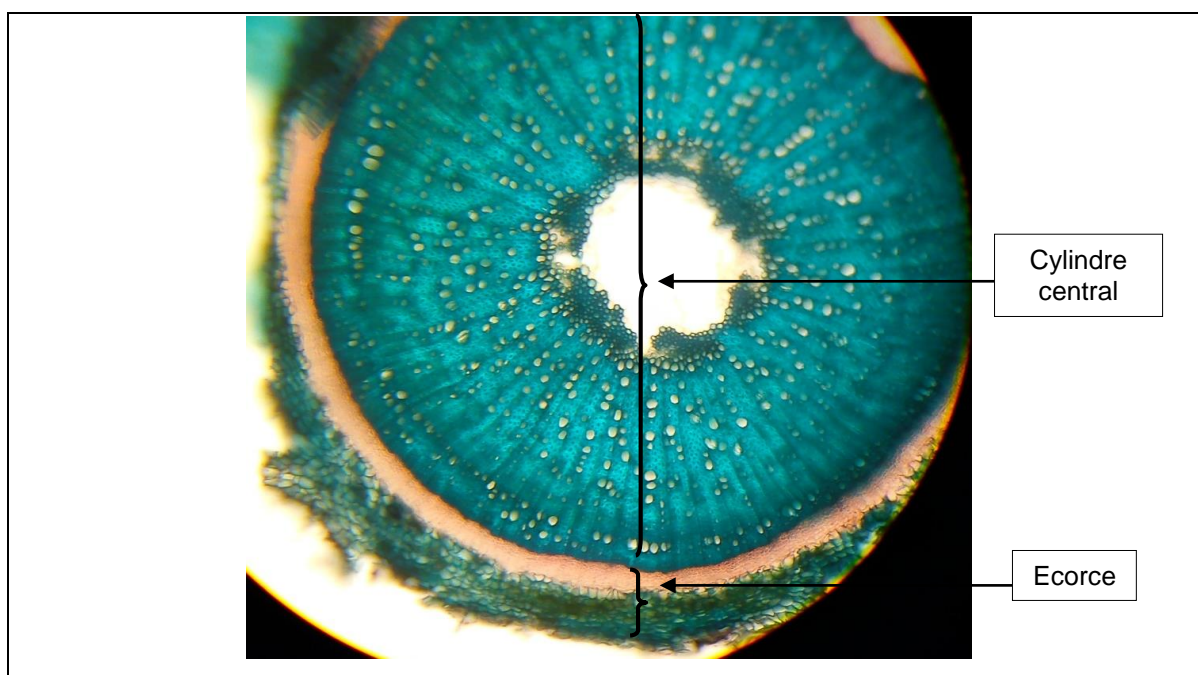


Figure 6.31 : Coupe transversale d'une portion de tige de *T. numidicus* observée sous microscope photonique (gr 10X10) (DPFMA, Originale : 2015)

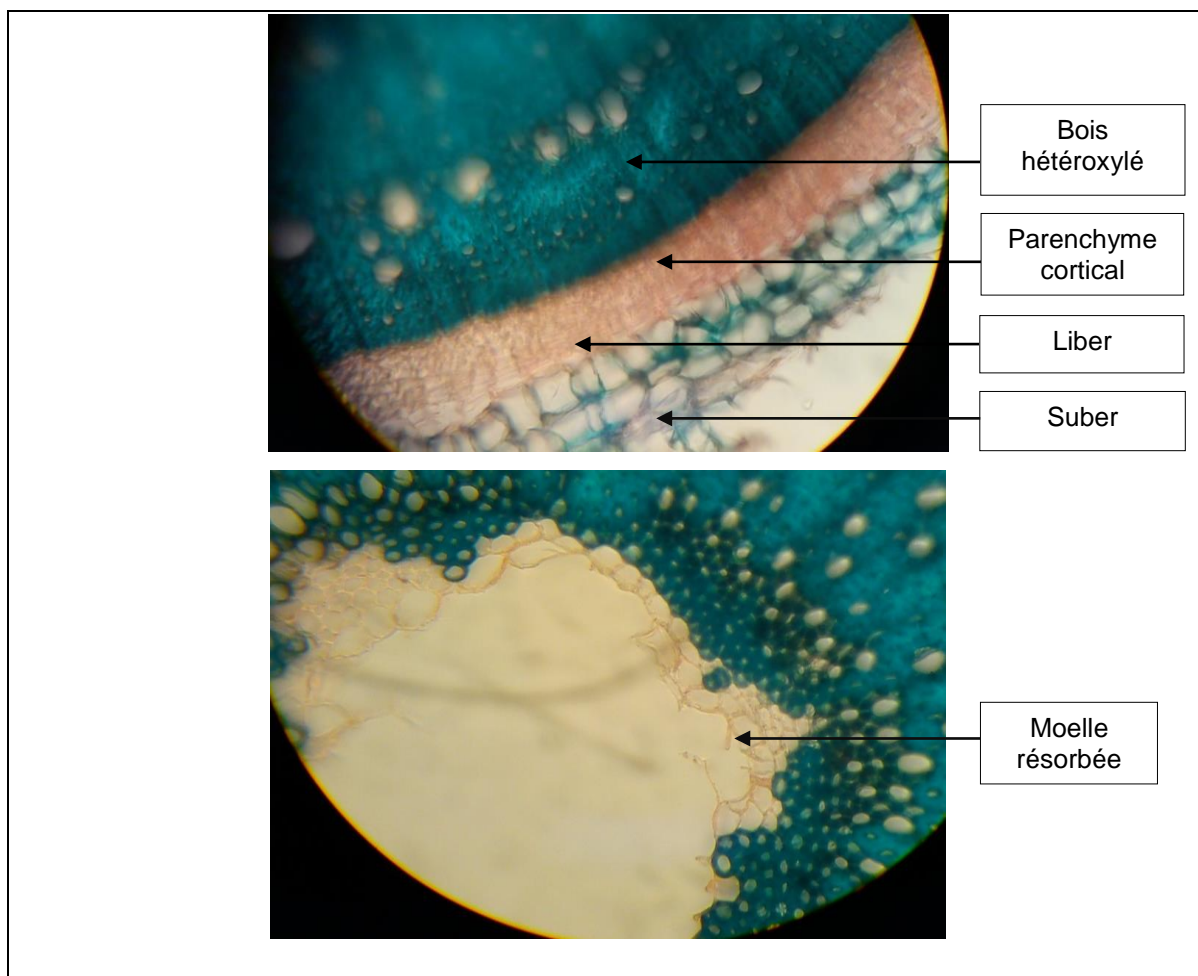


Figure 6.32 : Coupe transversale d'une portion de tige de *T. numidicus* observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Originale : 2015)

La figure 6.31 montre une coupe transversale d'une portion de tige de *T. numidicus* observée sous microscope photonique au faible grossissement (10X10) et la figure 6.32 présente une coupe transversale au grossissement (10X40).

Au niveau de l'écorce, cette écorce occupe par rapport au cylindre central un espace réduit ( $E < CC$ ), et renferme de l'extérieur à l'intérieur les tissus suivants :

- un suber qui joue un rôle de revêtement protecteur secondaire, formé de cellules fines et mortes à paroi subérifiée disposées en plusieurs assises, il est interrompu par des lenticelles permettant les échanges gazeux avec le milieu extérieur,
- un parenchyme cortical (tissu de remplissage), formé d'une assise de cellules polygonales vivantes à parois cellulosiques minces,

Au niveau du cylindre central, qui occupe une zone plus étendue, il renferme de l'extérieur à l'intérieur :

- un liber formé de tissus secondaires conducteurs de la sève élaborée (cellules cellulosiques disposées en files radiales),
- un bois hétéroxylé formé de tissus secondaires conducteurs de la sève brute (cellules lignifiées disposées en files radiales),
- et un parenchyme médullaire presque absent (moelle résorbée).

#### 6.6.5. Coupe transversale d'une portion de feuille de *T. numidicus*

La coupe transversale de la feuille de *T. numidicus* présente une symétrie bilatérale (Figure 6.33)

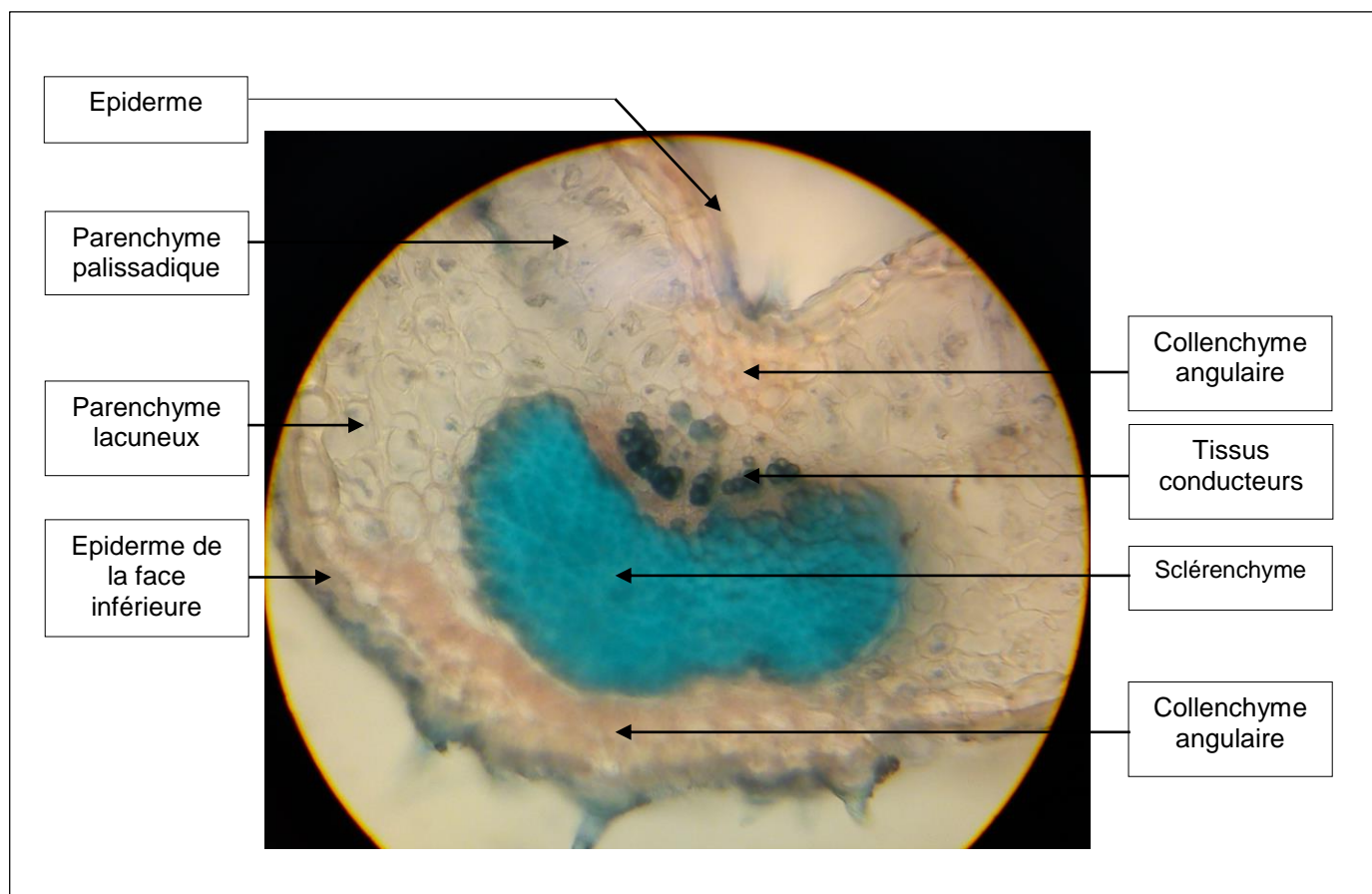


Figure 6.33: Coupe transversale d'une portion de feuille de *T. numidicus* observée sous microscope photonique (gr 10X40) (DPFMA, Originale : 2015)

La coupe transversale de la feuille de *T. numidicus* comporte de la face supérieure vers la face inférieure :

- A- un limbe avec un épiderme supérieur constitué d'une assise de cellules à parois minces finement cutinisée,
- B- un mésophylle hétérogène avec :
- un parenchyme palissadique (tissu sous épidermique supérieur), formé de deux assises de cellules polygonales à parois fines et cellulose,
  - un parenchyme lacuneux (tissu sous épidermique inférieur), formé de cellules arrondies à parois cellulose avec des lacunes,
  - un épiderme inférieur formé d'une assise de cellules à parois minces avec une cuticule plus épaisse que celle de la face supérieure et des poils tecteurs et sécréteurs,
- C- une nervure médiane avec :
- un parenchyme angulaire,
  - des tissus conducteurs, le xylème vers la face supérieure (conduit la sève brute) et le phloème vers la face inférieure (conduit la sève élaborée),
  - un sclérenchyme, tissu de soutien formé de cellules mortes à parois épaisses et lignifiées, disposées en amas.
  - un collenchyme, tissu de soutien formé de cellules rondes à parois cellulose épaisses.

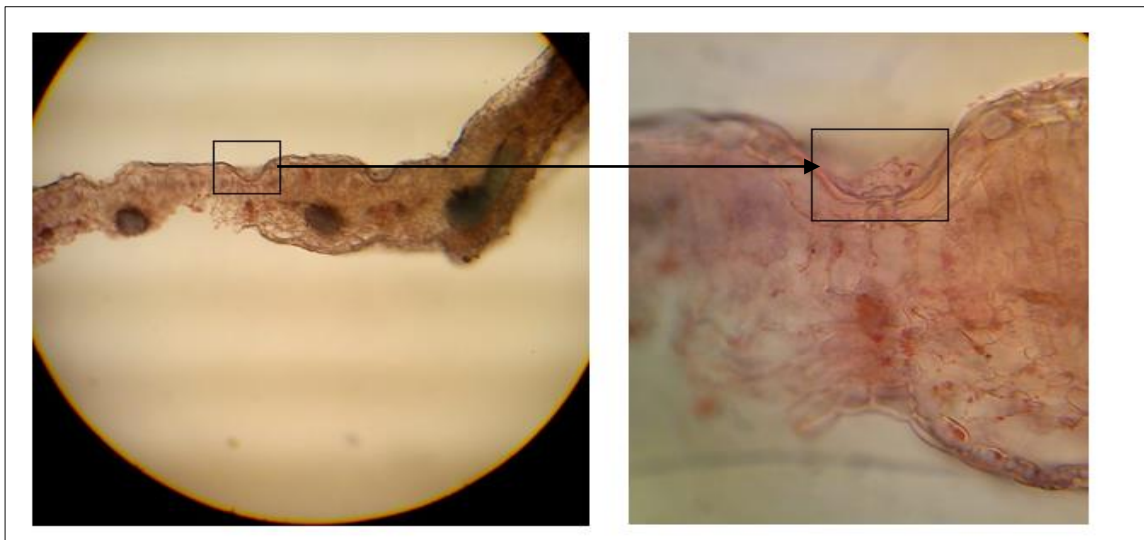


Figure 6.34 : Poil sécréteur de l'H.E au niveau d'une feuille de *T. numidicus* observé sous microscope photonique (gr 10X100) (DPFMA, Originale : 2015)



Il ressort de la figure 6.34, qu'au niveau de l'épiderme inférieur, on remarque la présence de dépressions au niveau des deux faces (supérieure et inférieure) représentées essentiellement par des poils sécréteurs.

Les résultats de l'étude anatomique des tiges et des feuilles de *T. numidicus* montrent que ces dernières présentent la structure générale de la tige et de la feuille des dicotylédones, justifiant donc sa position taxonomique.

DEYSSON [216], a décrit la tige des Lamiaceae comme étant souvent de section carrée (pas tous) avec quatre cordons de collenchyme angulaire placés symétriquement dans le parenchyme cortical, sous l'épiderme. Généralement, les poils tecteurs sont rarement unicellulaires, papilliformes (Thymus), souvent unisériés avec article terminal flagelliforme, quelquefois ramifiés (Rosmarinus, Lavandula). Les poils sécréteurs sont sessiles ou subsessiles dont la tête est formée de 1, 2, 4, 8 ou 16 cellules, le plus souvent 8. La plus part des descriptions de cet auteur concordent avec la présente étude sauf que les poils tecteurs de ce Thym sont unicellulaires.

#### 6.7. Activité insecticide des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des larves de *T. absoluta*

Les E.Vx à différentes concentrations et doses ont été testés sur les larves de *T. absoluta* aux différents stades de développement (L1, L2, L3 et L4) pendant, 24, 48 et 72 h.

##### 6.7.1. Activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des (L1) de *T. absoluta*

Les variations de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* en fonction de la durée d'exposition au traitement, en fonction de la concentration et la dose du traitement, et en fonction de la nature du traitement aussi sont détaillées dans le tableau 6.12.

Tableau 6.12 : Effets des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L1-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	41,09	76,46	100	4,77	5,72	8,09
48	53,91	76,93	100	5,1	5,74	8,09
72	61,52	100	100	5,29	8,09	8,09
<b>Ether de pétrole</b>						
24	65,21	73,68	94,73	5,40	5,63	6,57
48	68,42	77,77	94,73	5,48	5,76	6,57
72	89,47	100	100	6,24	8,09	8,09
<b>Butanolique</b>						
24	66,66	100	100	5,43	8,09	8,09
48	76,18	100	100	5,71	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	20	40	86,66	4,16	4,75	6,10
48	22,2	55,53	100	4,24	5,14	8,09
72	22,2	55,53	100	4,24	5,14	8,09
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	72,73	90,90	100	5,61	6,32	8,09
48	75	100	100	5,67	8,09	8,09
72	75	100	100	5,67	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	100	100	100	8,09	8,09	8,09
48	100	100	100	8,09	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	84	92	100	5,99	6,41	8,09
48	92	100	100	6,41	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	19,23	69,23	80,77	4,13	5,51	5,86
48	21,74	69,55	82,60	4,21	5,51	5,94
72	28,57	71,42	85,71	4,43	5,56	6,06
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	73,07	/	/	5,61
48	/	/	82,60	/	/	5,93
72	/	/	95,23	/	/	6,65
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	88,46	/	/	6,16
48	/	/	95,64	/	/	6,66
72	/	/	100	/	/	8,09

a.L'extrait hexanique : on constate que la concentration de 2,5 mg/mL agit modérément sur la mortalité des (L1), après 24, 48 et 72 h d'exposition les taux de mortalité atteignent 41,09 - 53,91 et 61,52 %.

Par ailleurs à la concentration 5 mg/mL, les taux de mortalité correspondent à 76,46 % après 24 h seulement pour atteindre un maximum de 100 % après 72 h d'exposition. Concernant la concentration de 10 mg/mL, les taux de mortalité atteignent leurs maximums de 100 % après 24 h d'exposition seulement.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : après 24 et 48 h d'exposition, cet extrait à la concentration 2,5 mg/mL a une activité moyenne à bonne, soit 65,21 et 68,42 % de mortalité respectivement. Tandis qu'après 72 h d'exposition, le taux de mortalité devient important avec 89,47 %.

Quant aux concentrations 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont forts, ils varient entre 73,68 et 100 % après 24, 48 et 72 h d'exposition.

c.L'extrait butanolique : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité atteignent 66,66 - 76,18 et 100 % après 24, 48 et 72 h. Aux concentrations 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont de 100 % pour toutes les durées d'exposition.

d.L'extrait chloroformique : cet extrait à la concentration 2,5 mg/mL, a une activité insecticide très faible sur les (L1), les pourcentages de mortalité varient entre 20 et 22,2 % seulement après 24, 48 et 72 h d'exposition. A la concentration 5 mg/mL, ces pourcentage sont relativement moyens pour les trois durées d'exposition (40 et 55,53 %). Tandis qu'à la forte dose (10 mg/mL), les taux de mortalité sont forts, ils varient entre 86,66 et 100 % pour les trois durées d'exposition.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : aux trois concentrations testées (2,5 - 5 et 10 mg/mL), les taux de mortalité sont très forts pour les trois temps d'exposition. Ils varient de 72,73 à 100 %.

f.L'extrait méthanolique : pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées, cet extrait s'avère très efficace contre la longévité des (L1) avec des taux de mortalité de 100 %.



g.L'extrait éthanolique : cet extrait exerce une bonne activité insecticide sur les (L1), d'où les pourcentages de mortalité oscillent entre 84 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i.L'extrait aqueux : cet extrait se montre inefficace à la faible concentration de 2,5 mg/mL. Après 24, 48 et 72 h, les taux de mortalité sont de l'ordre de 19,23 - 21,74 et 28 % seulement. Aux concentrations 5 et 10 mg/g, les taux de mortalité sont relativement bons, ils se situent entre 69,23 et 85,71 % pour les trois durées de traitement.

j.Les traitements chimiques : les deux insecticides chimiques testés montrent une efficacité remarquable sur les (L1) après 24 h d'exposition seulement, les taux de mortalité varient entre 73,07 et 95,23 % pour le Coragen®, et entre 88,46 et 100 % pour le Voliam Targo®.

Par conséquent, on note que l'activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* varie selon la nature de l'extrait, la concentration testée et le temps d'exposition aussi. Les extraits alcooliques ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle ont une activité très remarquable sur les (L1) après 24 h d'exposition seulement et à la plus faible concentration de 2,5 mg/mL. L'extrait de l'éther de pétrole et l'extrait hexanique réagissent aussi sur les (L1) de *T. absoluta* à la faible concentration aussi, mais après 72 h. Par contre les extraits chloroformique et aqueux donnent des taux de mortalité faibles à la faible dose.

Par ailleurs, on constate que les extraits alcooliques présentent une activité meilleure que celle des traitements chimiques testés.

#### 6.7.1.1. Effets des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

La toxicité des trois concentrations obtenues à partir de ces E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* a été testée sur les (L1) de *T. absoluta*. Elle a été estimée par les DL<sub>50</sub> qui sont représentées par les droites de régression indiquées dans la figure 6.35.

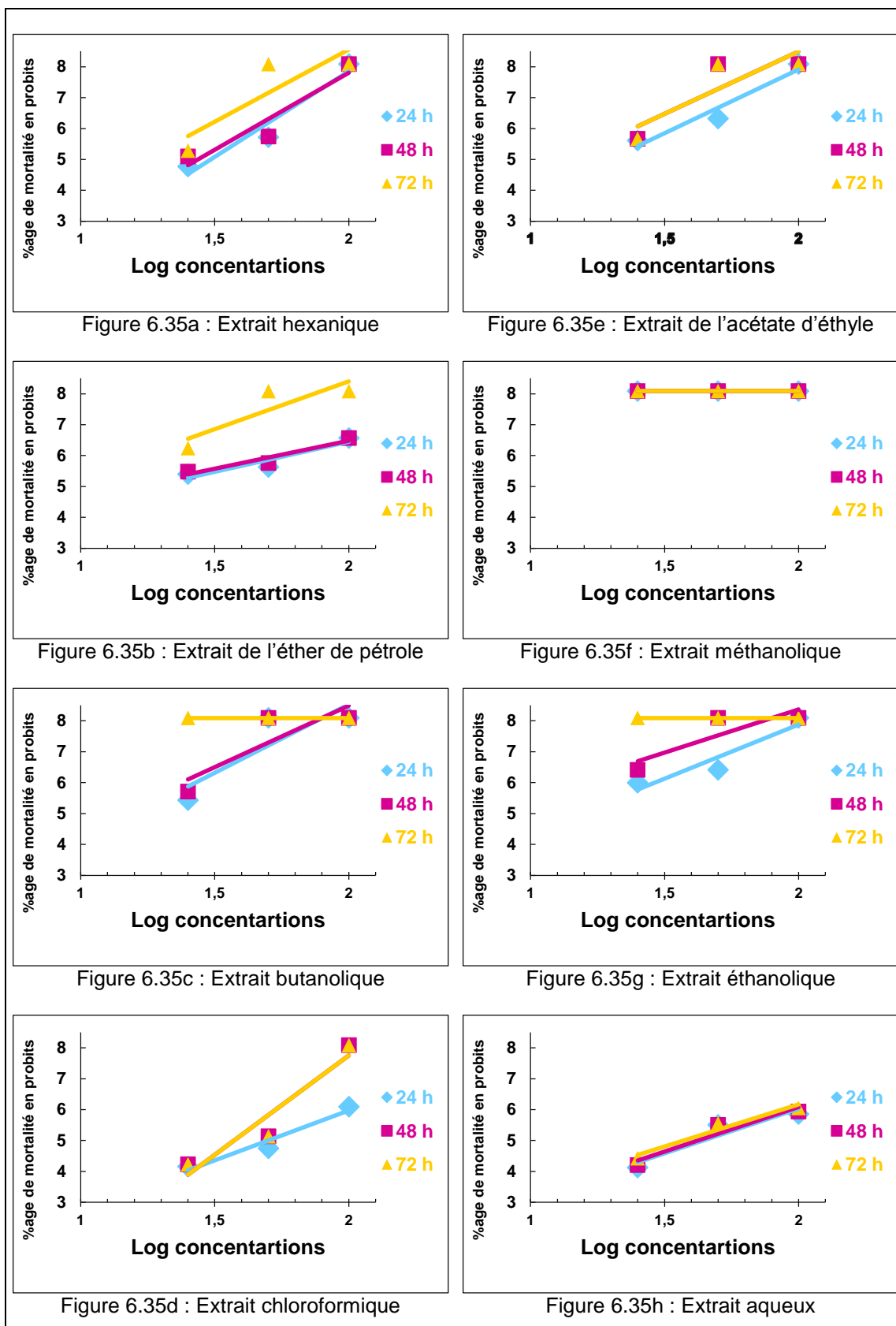


Figure 6.35 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L1 *T. absoluta*)

Les DL<sub>50</sub> ont été calculées à partir des droites de régression représentées dans la figure 6.35, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.13.

Tableau 6.13 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Extraits (L1-D.C)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
		24	48	72
Hexanique		2,31	2,01	1,52
Ether de pétrole		1,80	1,53	1,40
Butanolique		1,6	1,32	/
Chloroformique		5	3,73	3,73
Acétate d'éthyle		1,97	1,36	1,36
Méthanolique		/	/	/
Ethanolique		1,4	1,33	/
Aqueux		4,39	4,21	3,73

L'analyse des DL<sub>50</sub> après 24, 48 et 72 h d'exposition montre qu'elles sont inférieures à la concentration minimale de l'essai de (2,5 mg/mL) pour l'extrait de l'éther de pétrole, l'extrait de l'acétate d'éthyle et les extraits alcooliques. Toutefois pour cette même concentration, les taux de mortalité obtenus dépassent les 50 %. Par contre aux concentrations 5 et 10 mg/mL et pour tous les intervalles d'exposition, on a enregistré une mortalité excédant les 50 % de la population traitée. Pour tous les traitements, les valeurs des DL<sub>50</sub> sont inversement proportionnelles aux temps d'exposition.

#### 6.7.1.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

L'efficacité de la durée d'exposition des (L1) aux différents E.M.Ls a été estimée par les TL<sub>50</sub> représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.36.

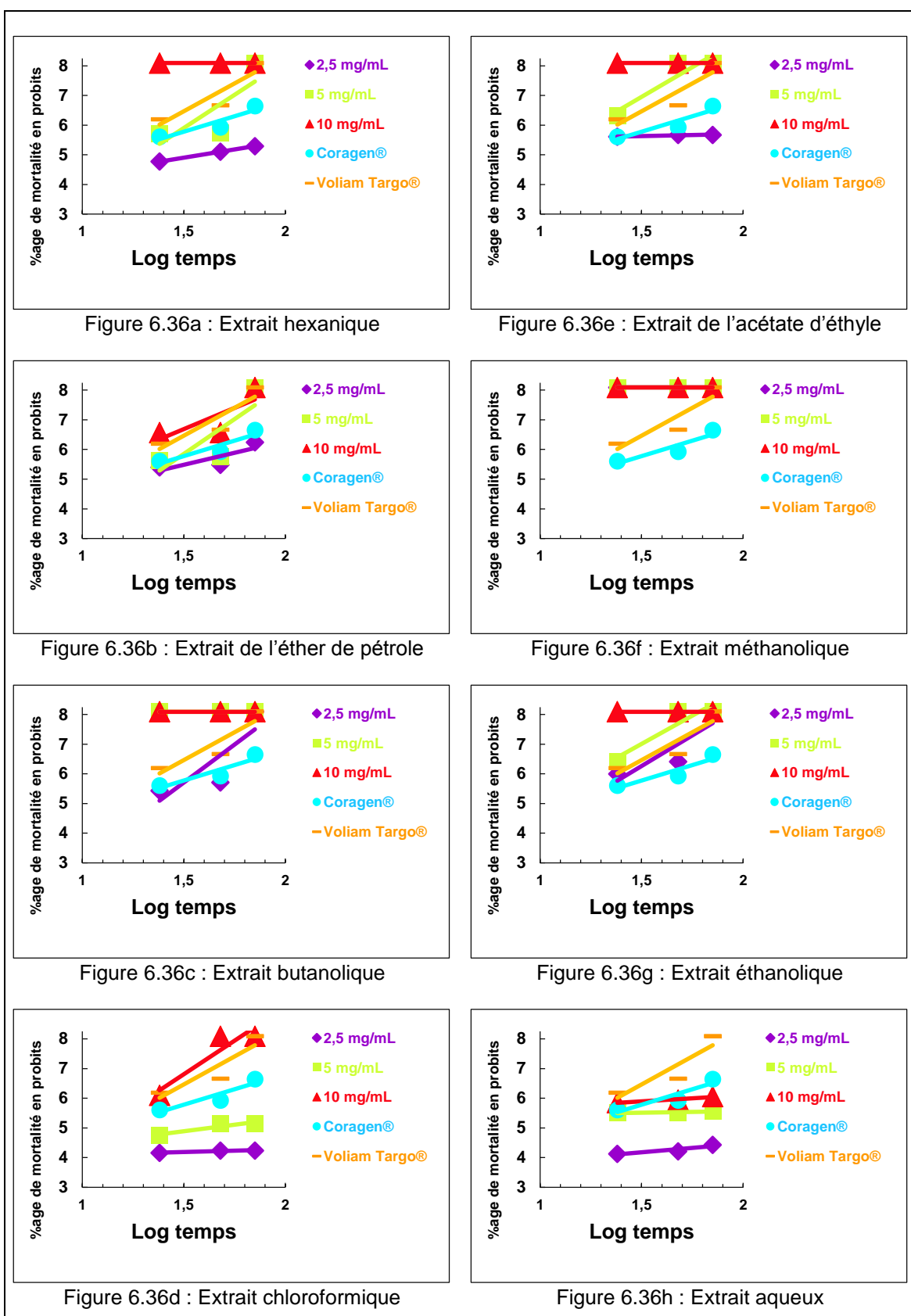


Figure 6.36 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L1 *T. absoluta*)

Les TL<sub>50</sub> ont été calculés à partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.36 et représentés dans le tableau 6.14.

Tableau 6.14 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L1-D.C)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	19 h et 50 min	9 h et 34 min	8 h et 37 min
Ether de pétrole	15 h et 81 min	20 h et 47 min	8 h et 40 min
Butanolique	16 h et 01 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Chloroformique	/	42 h et 24 min	12 h et 33 min
Acétate d'éthyle	18 h et 43 min	10 h et 19 min	8 h et 37 min
Méthanolique	8 h et 37 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Ethanolique	15 h et 32 min	9 h et 23 min	8 h et 37 min
Aqueux	774 h et 35 min	37 h et 26 min	18 h et 19 min
Coragen®	/	/	13 h et 22 min
Voliam Targo®	/	/	12 h et 53 min

D'après le tableau 6.14, l'analyse des TL<sub>50</sub> aux différentes concentrations testées montre que les TL<sub>50</sub> les plus faibles sont enregistrés avec la plus forte concentration (10 mg/mL) et avec les extraits alcooliques aussi.

Par contre, les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés que ceux enregistrés avec les extraits alcooliques à la moyenne et à la forte concentration de 5 et 10 mg/mL respectivement.

#### 6.7.2. Activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des (L1) de *T. absoluta*

Les résultats de l'effet de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta* sont étalés dans le tableau 6.15.

Tableau 6.15 : Effets de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L1-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (µL/L)					Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	43,41	52,15	69,49	73,92	78,23	4,83	5,05	5,51	5,64	5,78
48	47,85	60,89	78,23	86,96	91,26	4,94	5,28	5,78	6,13	6,36
72	63,09	73,66	84,23	94,64	94,64	5,33	5,63	6	6,61	6,61
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	73,07	/	/	/	/	5,61
48	/	/	/	/	82,60	/	/	/	/	5,93
72	/	/	/	/	95,23	/	/	/	/	6,65
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	88,46	/	/	/	/	6,19
48	/	/	/	/	95,64	/	/	/	/	6,66
72	/	/	/	/	100	/	/	/	/	8,09

La lecture du tableau 6.15, montre que l'H.E testée présente une bonne activité insecticide vis-à-vis des (L1) de *T. absoluta*, l'efficacité de cette H.E augmente en fonction des doses et en fonction de la période d'exposition aussi.

A la dose la plus élevée (800 µL/L) et pour les temps d'exposition de 24, 48 et 72 h, les taux de mortalité enregistrés dépassent 75 %. Aux moyennes doses (200 et 400 µL/L) et pour les mêmes durées d'exposition, ils dépassent largement les 69 %, ils oscillent entre 69,49 et 94,64 %.

Par contre, après 24, 48 et 72 h d'exposition et pour la dose 100 µL/L, les taux de mortalité sont respectivement de 52,15 - 60,89 et 73,66 %. Pour ces mêmes temps, les taux de mortalité sont de 43,41, 47,87 et 63,09 % respectivement pour la faible dose de 50 µL/L. Nous relevons que les taux de mortalité des (L1) exposées aux traitements chimiques sont élevés. Pour le Coragen® les pourcentages de mortalité varient entre 73,07 et 93,03 %, et pour le Voliam Targo® ils sont compris entre 88,46 et 100 % pour les trois périodes d'exposition.

#### 6.7.2.1. Effets des traitements par l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

L'efficacité des différentes doses de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* a été évaluée par les DL<sub>50</sub> illustrées par les droites de régression dans la figure 6.37.

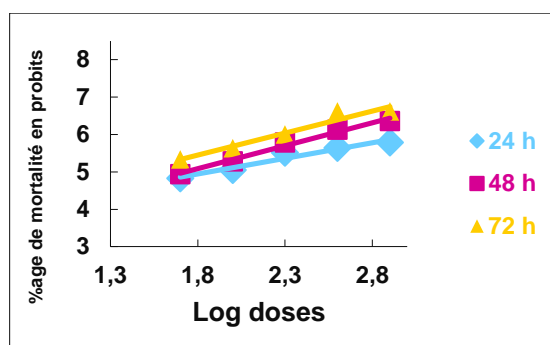


Figure 6.37 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L1 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression présentées dans la figure 6.37, on a calculé les  $DL_{50}$  qui sont représentées dans le tableau 6.16.

L'efficacité de cette H.E est en relation étroite avec la dose du traitement et la durée d'exposition au traitement aussi.

Tableau 6.16 : Résultats des  $DL_{50}$  de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L1-D.C)	Temps (h)	$DL_{50}$ ( $\mu\text{L/L}$ )		
		24	48	72
H.E		73,09	54,01	26,43

D'après ce tableau, on constate que la  $DL_{50}$  la plus faible est obtenue à la dose 26,43  $\mu\text{L/L}$  après 72 h d'exposition au traitement, elle est inférieure à la plus faible dose testée.

Par contre après 24 h d'exposition au traitement, la  $DL_{50}$  la plus faible est enregistrée à la dose 73,09  $\mu\text{L/L}$ , ce qui correspond à la faible dose testée.

#### 6.7.2.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

La figure 6.38, montre l'action des durées de traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* sur la longévité des (L1), elle est exprimée par les  $TL_{50}$ .

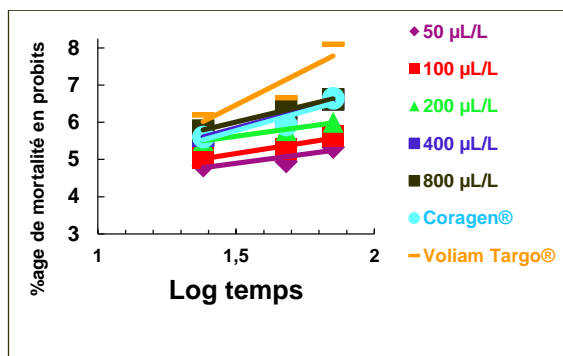


Figure 6.38 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L1 *T. absoluta*)

Les  $TL_{50}$  de l'H.E de *D. carota ssp. carota* obtenus à partir des droites de régression et présentés dans le tableau 6.17.

Tableau 6.17 : Résultats des  $TL_{50}$  de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L1-D.C)	Doses ( $\mu\text{L/L}$ )	$TL_{50}$				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	
H.E		40 h et 12 min	23 h et 14 min	11 h et 58 min	8 h et 39 min	7 h et 50 min

D'après ce tableau, on constate que la dose du traitement diminue considérablement avec l'augmentation de la durée du traitement.

### 6.7.3. Activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota ssp. carota* à l'égard des (L2) de *T. absoluta*

L'effet des E.M.Ls de *D. carota ssp. carota* sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta* est mentionné dans le tableau 6.18.



Tableau 6.18 : Effets des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L2-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	60	60	100	5,25	5,25	8,09
48	61,1	72,21	100	5,28	5,60	8,09
72	87,49	87,49	100	6,15	6,15	8,09
<b>Ether de pétrole</b>						
24	52,63	82,60	86,96	5,07	5,94	6,13
48	55,55	89,50	89,46	5,14	6,24	6,24
72	55,55	93,74	94,73	5,14	6,50	6,57
<b>Butanolique</b>						
24	65,21	100	100	5,40	8,09	8,09
48	71,43	100	100	5,56	8,09	8,09
72	90,47	100	100	6,29	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	7,13	57,14	85,71	3,53	5,19	6,06
48	20	60	100	4,16	5,25	8,09
72	20	60	100	4,16	5,25	8,09
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	72	88	96	5,58	6,18	6,75
48	72,73	100	100	5,60	8,09	8,09
72	76,18	100	100	5,72	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	84,61	96,15	100	6,01	6,76	8,09
48	92	100	100	6,41	8,09	8,09
72	95,89	100	100	6,68	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	80,77	84,61	92,30	5,86	6,01	6,42
48	88,00	96	100	6,18	6,75	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	8,00	32	56	3,59	4,53	5,15
48	12,50	37,5	62,5	3,83	4,68	5,32
72	12,50	37,5	62,5	3,83	4,68	5,32
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	60,00	/	/	5,25
48	/	/	70,82	/	/	5,54
72	/	/	87,50	/	/	6,14
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	72,22	/	/	5,58
48	/	/	83,32	/	/	5,96
72	/	/	95,82	/	/	6,66

a.L'extrait hexanique : d'après le tableau 6.18, on constate qu'à la concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité des (L2), après 24, 48 et 72 h d'exposition sont respectivement de 60 - 61,1 et 87,49 %.

Par ailleurs à la concentration 5 mg/mL, les taux de mortalité correspondent à 60 - 72,21 et 87,49 % après 24, 48 et 72 h d'exposition. Par contre, à la concentration de 10 mg/mL, les taux de mortalité atteignent leurs maximums de 100 % pour les trois durées d'exposition seulement.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : après 24, 48 et 72 h d'exposition, cet extrait à la concentration de 2,5 mg/mL a une activité insecticide moyenne, entre 52,63 et 55,55 %.

Quant aux concentrations 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont forts, ils varient entre 82,6 et 94,73 % après 24, 48 et 72 h d'exposition.

c.L'extrait butanolique : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, le taux de mortalité est moyen avec 65,21 % après 24 h, pour atteindre 71,43 % après 48 h et 90,47 % après 72 h. Aux concentrations 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont de 100 % pour toutes les durées d'exposition.

d.L'extrait chloroformique : à la concentration 2,5 mg/mL, cet extrait a une activité insecticide très faible sur les (L2), les pourcentages de mortalité oscillent entre 7,13 et 20 % seulement après 24, 48 et 72 h d'exposition.

A la concentration 5 mg/mL, les pourcentages de mortalité sont moyens après les trois durée d'exposition soit 57 et 60 %. Par contre ces taux atteindront les 100 % à la dose de 10 mg/mL après les trois durées d'exposition.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : aux trois concentrations testées (2,5 - 5 et 10 mg/mL), les taux de mortalité sont très forts pour les trois temps d'exposition, ils se situent entre 72 et 100 %.

f.L'extrait méthanolique : pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées, cet extrait s'avère très efficace à l'égard des (L2), avec des taux de mortalité allant de 84,61 à 100 %.

g. L'extrait éthanolique : cet extrait exerce une bonne activité insecticide sur les (L2), d'où les pourcentages de mortalité varient entre 88,77 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i. L'extrait aqueux : cet extrait se montre inefficace vis-à-vis des (L2) à la faible concentration de 2,5 mg/mL et à la moyenne concentration de 5 mg/mL après 24, 48 et 72 h, les taux de mortalité se situent entre 8 et 37,5 % seulement.

A la concentration 10 mg/mL, les taux de mortalité sont relativement moyens, ils varient entre 56 et 62,5 % pour les trois durées de traitement.

j. Les traitements chimiques : le Coragen® et le Voliam Targo® montrent une efficacité remarquable sur les (L2) après 24 h d'exposition seulement, on note respectivement des taux de mortalité entre 60 et 72,22 %. Ces taux dépassent les 70 % après 48 et 72 h d'exposition.

Par conséquent, on constate que l'activité insecticide des extraits alcooliques ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle est très remarquable après 24 h d'exposition seulement et à la plus faible concentration de 2,5 mg/mL.

Les extraits de l'éther de pétrole et l'extrait hexanique réagissent aussi sur les (L2) de *T. absoluta* à la faible concentration aussi mais après 72 h. Par contre les extraits chloroformique et aqueux donnent des taux de mortalité très faibles à moyens pour la faible et la moyenne concentration. Les insecticides chimiques révèlent des taux de mortalité considérables sur les (L2) de *T. absoluta*.

De ce fait, on constate que les extraits alcooliques présentent une activité meilleure que celle des traitements chimiques testés.

#### 6.7.3.1. Effets des traitements par les E.M.Ls de *D carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

L'efficacité des trois concentrations testées obtenues à partir des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta* a été estimée par les DL<sub>50</sub> représentées par les droites de régression indiquées dans la figure 6.39.

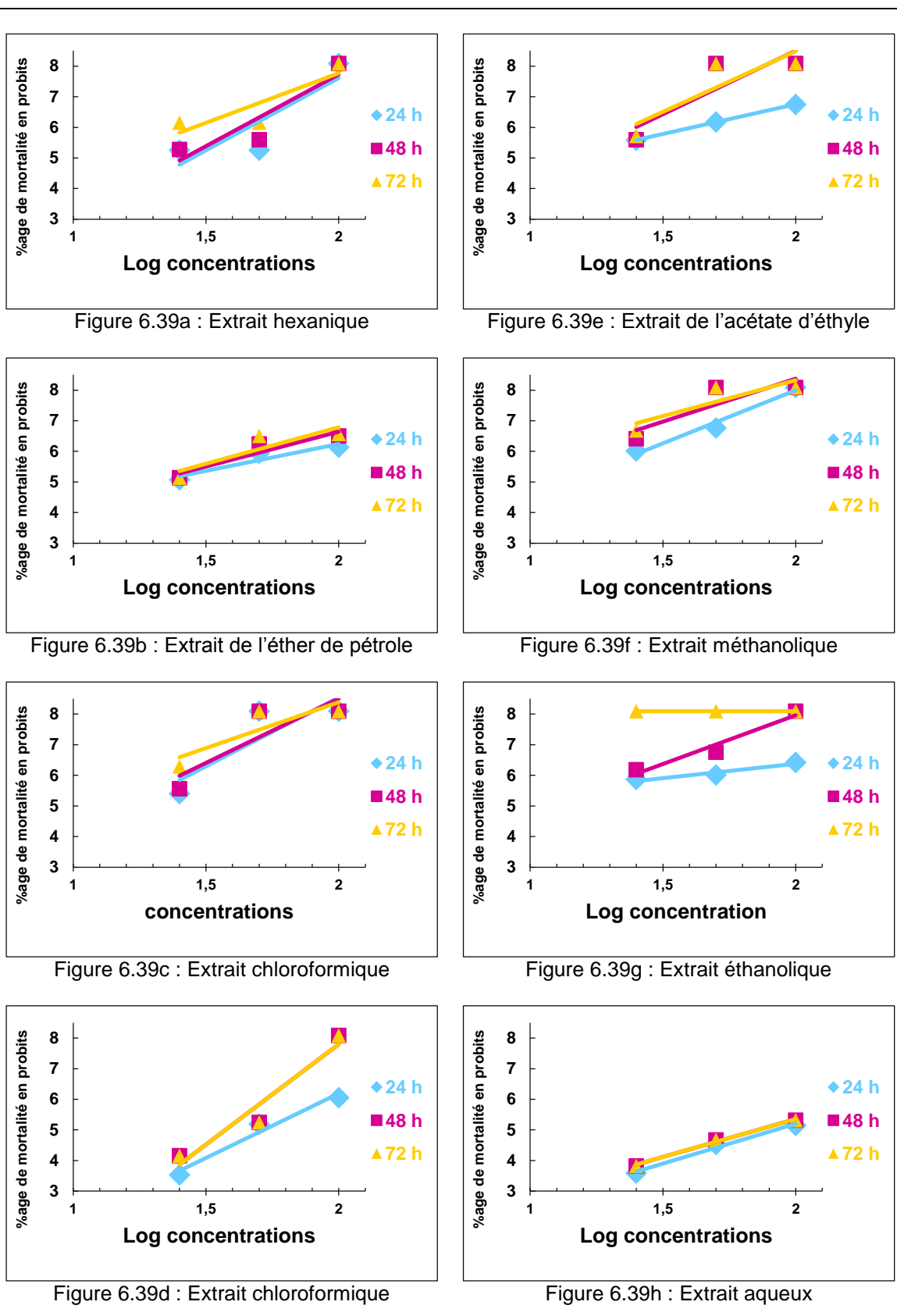


Figure 6.39 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L2 *T. absoluta*)

A partir de la figure 6.39, on a calculé les DL<sub>50</sub>, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.19.

Tableau 6.19 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Extraits (L2-D.C)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
	24	48	72	
Hexanique	2,8	2,61	1,39	
Ether de pétrole	1,98	1,89	1,78	
Butanolique	1,62	1,47	0,74	
Chloroformique	5,22	3,74	3,74	
Acétate d'éthyle	1,31	1,43	1,26	
Méthanolique	1,37	0,63	0,39	
Ethanolique	2,38	1,17	2,1	
Aqueux	8,35	7,2	7,2	

Après 24, 48 et 72 h d'exposition des (L2) de *T. absoluta* aux différents traitements végétaux de *D. carota* ssp. *carota*, l'analyse des DL<sub>50</sub> dévoile qu'elles sont inférieures à la concentration minimale de l'essai de (2,5 mg/mL) à l'exception des extraits chloroformique et aqueux.

Les valeurs des DL<sub>50</sub> diminuent avec l'augmentation de la durée du traitement. De ce fait, les valeurs des DL<sub>50</sub> les plus faibles sont enregistrées après 72 h d'exposition.

#### 6.7.3.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

L'efficacité de la durée d'exposition des (L2) aux différents E.M.Ls a été estimée par les TL<sub>50</sub> représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.40.

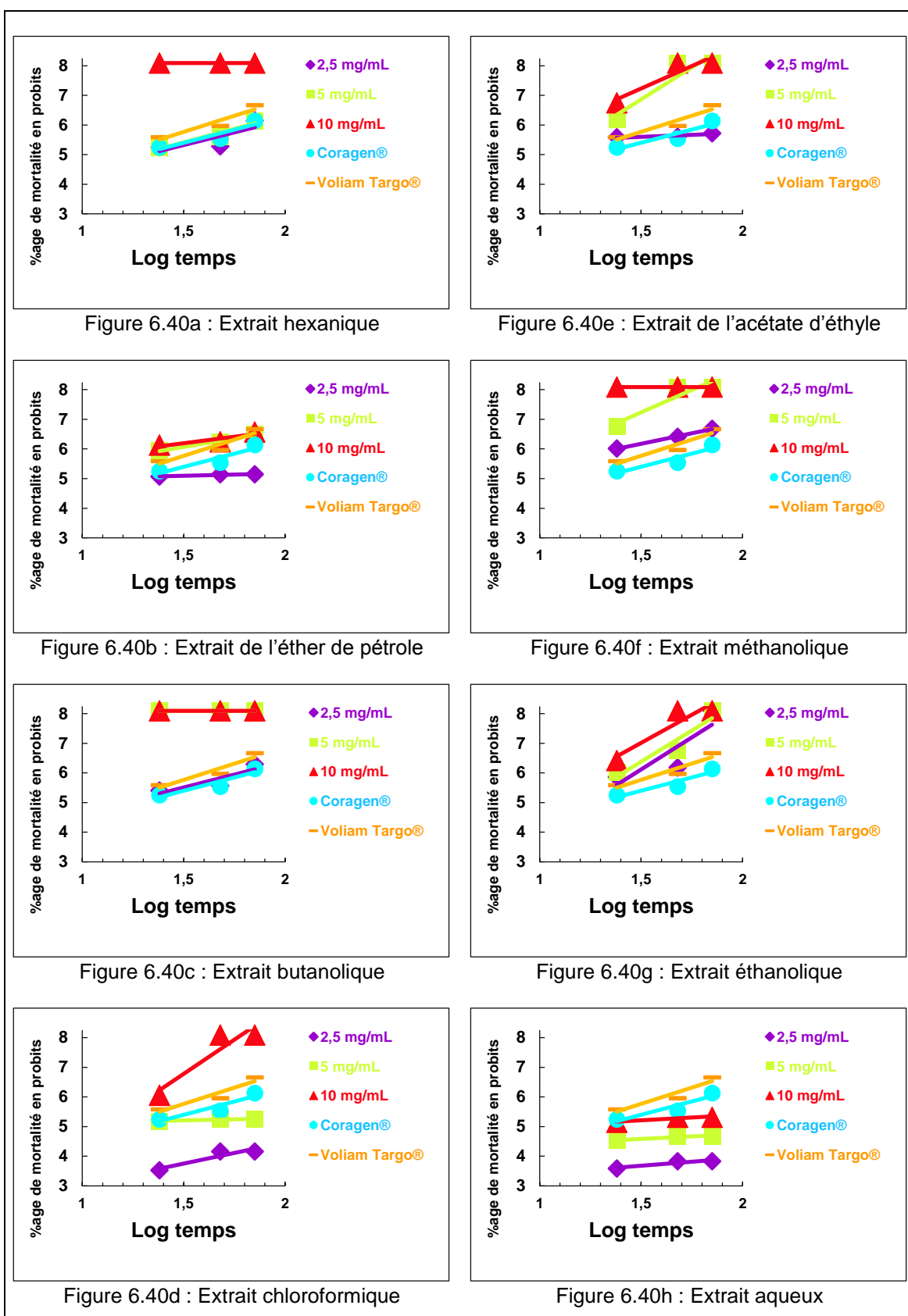


Figure 6.40 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L2 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.40, on a calculé les TL<sub>50</sub>. Le tableau 6.20 montre les valeurs des TL<sub>50</sub> obtenues.

Tableau 6.20 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L2-D.C)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	20 h et 23 min	18 h et 43 min	8 h et 37 min
Ether de pétrole	34 h et 31 min	27 h et 47 min	11 h et 10 min
Butanolique	23 h et 53 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Chloroformique	236 h et 19 min	142 h et 41 min	12 h et 56 min
Acétate d'éthyle	32 h et 51 min	11 h et 45 min	5 h et 50 min
méthanolique	4 h et 42 min	8 h et 44 min	8 h et 37 min
Ethanolique	17 h et 25 min	14 h et 53 min	9 h et 17 min
Aqueux	8768 h et 10 min	542 h et 38 min	79 h et 42 min
Coragen®	/	/	18 h et 55 min
Voliam Targo®	/	/	14 h et 03 min

D'après le tableau 6.20, les TL<sub>50</sub> les plus faibles correspondent à la plus forte concentration testée (10 mg/mL) et aux extraits alcooliques aussi.

Les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés que ceux enregistrés avec les extraits alcooliques à la forte et à la moyenne concentration de 10 et 5 mg/mL respectivement.

#### 6.7.4. Activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des (L2) de *T. absoluta*

L'analyse de l'activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta* est étalée dans le tableau 6.21.

Tableau 6.21 : Effets de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L2-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (µL/L)					Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	25	29,12	33,25	54,12	66,62	4,33	4,45	4,57	5,1	5,43
48	30,38	39,11	43,41	56,45	69,49	4,49	4,72	4,83	5,16	5,51
72	40,03	59,97	59,97	74,96	85,01	4,75	5,25	5,25	5,67	6,04
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	60,00	/	/	/	/	5,25
48	/	/	/	/	70,82	/	/	/	/	5,54
72	/	/	/	/	87,50	/	/	/	/	6,14
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	72,22	/	/	/	/	5,58
48	/	/	/	/	83,32	/	/	/	/	5,96
72	/	/	/	/	95,82	/	/	/	/	6,66

Les résultats présentés dans le tableau 6.21, montrent que le pourcentage de la mortalité larvaire est important chez les (L2), avoisinant les 50 % après 24 h seulement aux doses 400 et 800 µL/L.

Tandis qu'aux doses 100 et 200 µL/L, ils dépassent les 50 % après 72 h. Concernant la dose 50 µL/L, les taux de mortalité ne dépassent pas 50 % pour toutes les durées d'exposition.

Les deux insecticides chimiques ont montré une toxicité supérieure à 50 % pour tous les temps d'exposition.

La dose 800 µL/L montre une efficacité similaire à celle des traitements chimiques.

#### 6.7.4.1. Effets des traitements par l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses des sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

L'action des différentes doses sur les (L2) de *T. absoluta* a été interprétée par les DL<sub>50</sub>, et représentée dans la figure 6.41.



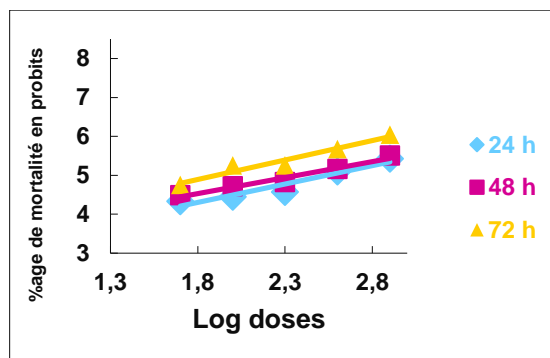


Figure 6.41 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L2 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression présentées dans la figure 6.41, on a calculé les  $DL_{50}$ . Le tableau 6.22 montre les différentes  $DL_{50}$  obtenues avec l'H.E de *D. carota ssp. carota* à des intervalles de temps variés.

Tableau 6.22 : Résultats des  $DL_{50}$  de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L2-D.C)	Temps (h)	$DL_{50}$ ( $\mu\text{L/L}$ )		
		24	48	72
H.E		343,39	235,98	80,91

D'après ce tableau, on constate que la  $DL_{50}$  la plus faible est obtenue après 72 h d'exposition au traitement, elle correspond à 80,91  $\mu\text{L/L}$  seulement.

#### 6.7.4.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* à différentes doses sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

La durée de l'efficacité du traitement par l'H.E de *D. carota ssp. carota* a été interprétée par les  $TL_{50}$  représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.42.

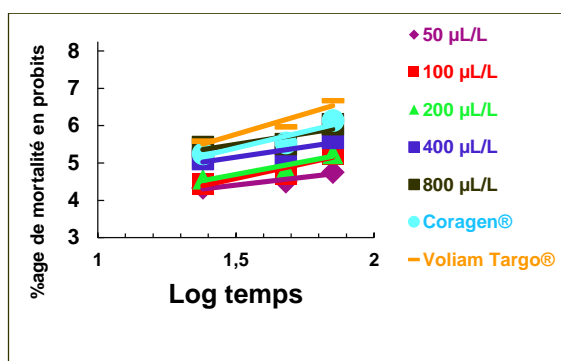


Figure 6.42 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L2 *T. absoluta*)

Les résultats obtenus à partir de la régression du logarithme du temps en fonction des probits nous ont permis de déterminer les TL<sub>50</sub> de l'H.E de *D. carota ssp. carota*. Ils sont présentés dans le tableau 6.23.

Tableau 6.23 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Doses (µL/L) Extrait (L2-D.C)	TL <sub>50</sub>				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>	157 h et 28 min	57 h et 10 min	52 h et 42 min	22 h et 39 min	11 h et 58 min

Les TL<sub>50</sub> diminuent en fonction de l'augmentation des doses, la durée la plus courte de 11 h et 58 min est enregistrée avec la plus forte à 800 µL/L.

#### 6.7.5. Activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota ssp. carota* à l'égard des (L3) de *T. absoluta*

Les résultats du traitement des (L3) par les E.M.Ls sont présentés dans le tableau 6.24.

Tableau 6.24 : Effets des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L3-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	47,61	57,14	71,42	4,94	5,19	5,56
48	55,50	70	75	5,14	5,52	5,67
72	75	80	80,94	5,67	5,84	5,88
<b>Ether de pétrole</b>						
24	33,32	66,66	80,94	4,57	5,43	5,88
48	52,37	85,71	80,94	5,06	6,06	5,88
72	55	90	90	5,13	6,28	6,28
<b>Butanolique</b>						
24	68	92	100	5,47	6,41	8,09
48	72	100	100	5,58	8,09	8,09
72	80	100	100	5,84	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	7,13	58,81	88,23	3,53	5,23	6,19
48	20	60	100	4,16	5,25	8,09
72	20	61,53	100	4,16	5,29	8,09
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	69,23	84,61	92,31	5,51	6,01	6,42
48	69,23	96,15	100	5,51	6,76	8,09
72	72	100	100	5,58	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	84,61	92,30	100	6,01	6,42	8,09
48	88	100	100	6,18	8,09	8,09
72	95,82	100	100	6,66	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	71,43	85,71	89,29	5,56	6,06	6,24
48	76	96	100	5,71	6,75	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	7,15	12	14,29	3,53	3,74	3,95
48	11,11	25,92	44,44	3,77	4,36	4,86
72	11,11	40,73	44,44	3,77	4,77	4,86
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	57,14	/	/	5,18
48	/	/	70,37	/	/	5,53
72	/	/	81,48	/	/	5,89
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	60,71	/	/	5,27
48	/	/	74,06	/	/	5,64
72	/	/	92,59	/	/	6,43

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 6.24, on remarque que l'activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* varie selon la concentration du traitement, la nature du traitement et la durée d'exposition au traitement aussi.

a.L'extrait hexanique : à la concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité des (L3), après 24, 48 et 72 h d'exposition sont de 47,61 - 55,5 et 75 %.

Par contre, à la concentration 5 mg/mL, le taux de mortalité est de 57,17 après 24 h d'exposition pour atteindre un maximum de 80 % après 72 h d'exposition.

A la concentration 10 mg/mL, les taux de mortalité dépassent les 80 % pour les trois durées d'exposition.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité sont faibles à moyens, ils sont respectivement de 33,32 - 52,37 et 55 % après 24, 48 et 72 h d'exposition.

Tandis que pour les autres concentrations, soit 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont bons, ils varient entre 66,66 et 90 % pour toutes les durées d'exposition.

c.L'extrait butanolique : cet extrait s'avère toujours bon contre la longévité des (L3), les pourcentages de mortalité dépassent les 68 % pour toutes les concentrations et pour toutes les durées d'exposition aussi.

d.L'extrait chloroformique : les taux de mortalité sont très faibles à la concentration 2,5 mg/mL, de 7,13 à 20 %, ils sont moyens à la concentration 5 mg/mL, de 58,81 à 61,53 % et très bons à la concentration 10 mg/mL, de 88,23 à 100 %, et ce pour toutes les durées d'exposition.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : aux trois concentrations testées (2,5 - 5 et 10 mg/mL), les taux de mortalité sont très forts pour les trois temps d'exposition. Ils oscillent entre 69,23 et 100 %.

f.L'extrait méthanolique : pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées, cet extrait s'avère très efficace à l'égard des (L3), avec des taux de mortalité allant de 84,61 à 100 %.

g.L'extrait éthanolique : cet extrait exerce une bonne activité insecticide sur les (L3), d'où les pourcentages de mortalité varient entre 88,77 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i.L'extrait aqueux : aux différentes concentrations testées, et aux différents temps d'exposition, cet extrait se montre inefficace, sachant que les taux de mortalité ne dépassent pas les 50 %.

j.Les traitements chimiques : les insecticides chimiques ont une activité moyenne après 24 h d'exposition. Par contre, l'activité insecticide devient importante après 48 h d'exposition.

A travers ces résultats, on conclue que les extraits polaires se révèlent plus efficaces sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta* que les extraits non polaires. Par contre l'extrait chloroformique et l'extrait aqueux sont inefficaces à la faible concentration.

Les extraits alcooliques à la faible concentration (2,5 mg/mL) sont toujours plus efficaces que les traitements chimiques testés.

#### 6.7.5.1. Effets des traitements par les E.M.Ls *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

Pour rechercher l'action des concentrations des différents traitements testés, on a calculé les DL<sub>50</sub> des différents E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* sur les (L3) de *T. absoluta*.

Les DL<sub>50</sub> obtenues sont illustrées dans la figure 6.43.

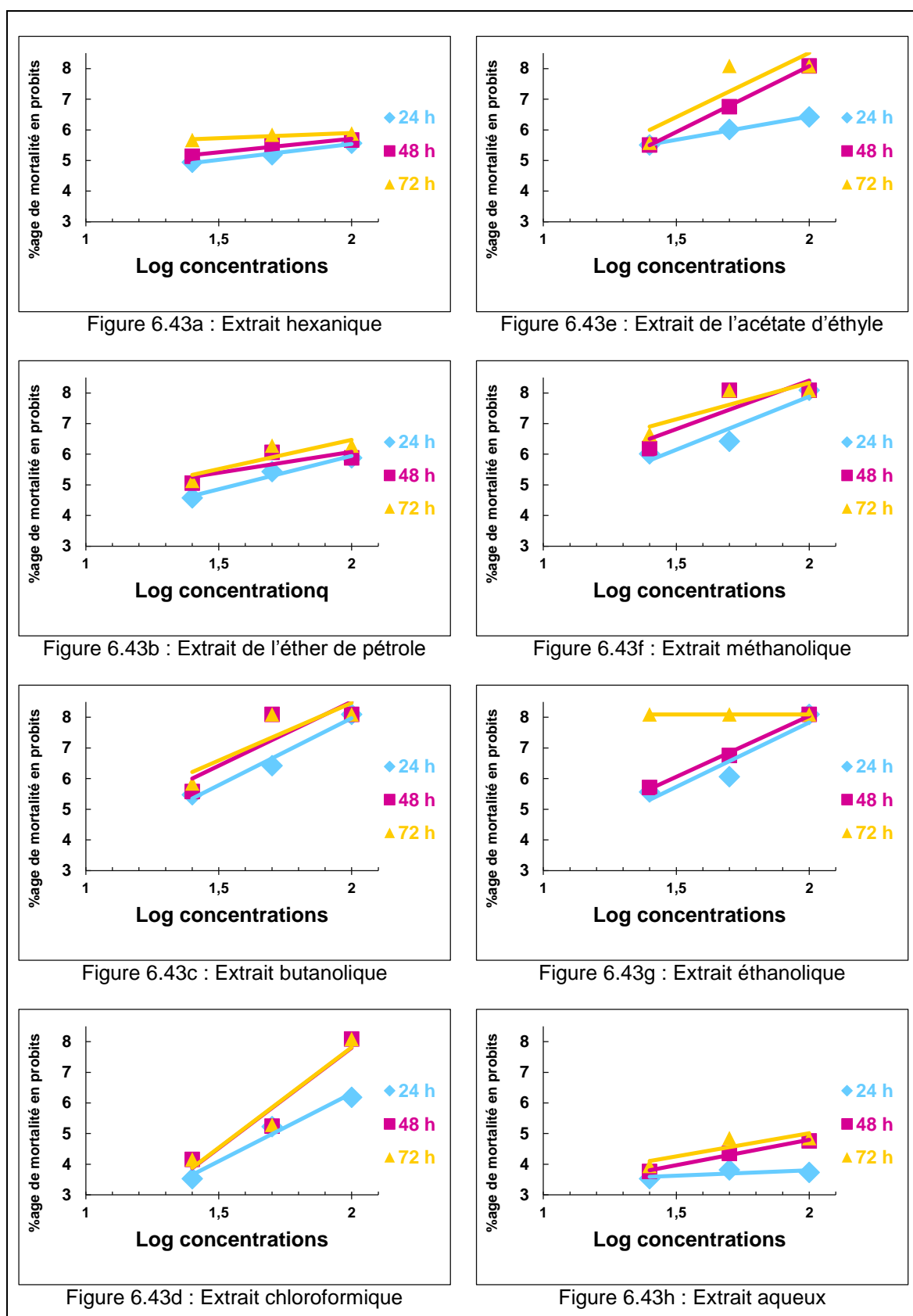


Figure 6.43 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L3 *T. absoluta*)

A partir de la figure 6.43, on a calculé les DL<sub>50</sub>, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.25.

Tableau 6.25 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Extraits (L3-D.C)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
		24	48	72
Hexanique		3,01	2,67	1,39
Ether de pétrole		3,68	1,63	1,71
Butanolique		2,1	1,45	1,19
chloroformique		5,06	3,74	3,72
Acétate d'éthyle		1,45	1,93	1,14
Méthanolique		1,48	0,85	0,40
Ethanolique		2,13	1,71	/
Aqueux		10,5	24,13	26651

Après avoir exposé les (L3) de *T. absoluta* pendant 72 h aux différents traitements végétaux de *D. carota* ssp. *carota*, toutes les DL<sub>50</sub> obtenues sont inférieures à la concentration minimale à l'exception de l'extrait chloroformique et l'extrait aqueux.

#### 6.7.5.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

La figure 6.44, montre l'influence de la durée d'exposition des (L3) aux différents E.M.Ls.

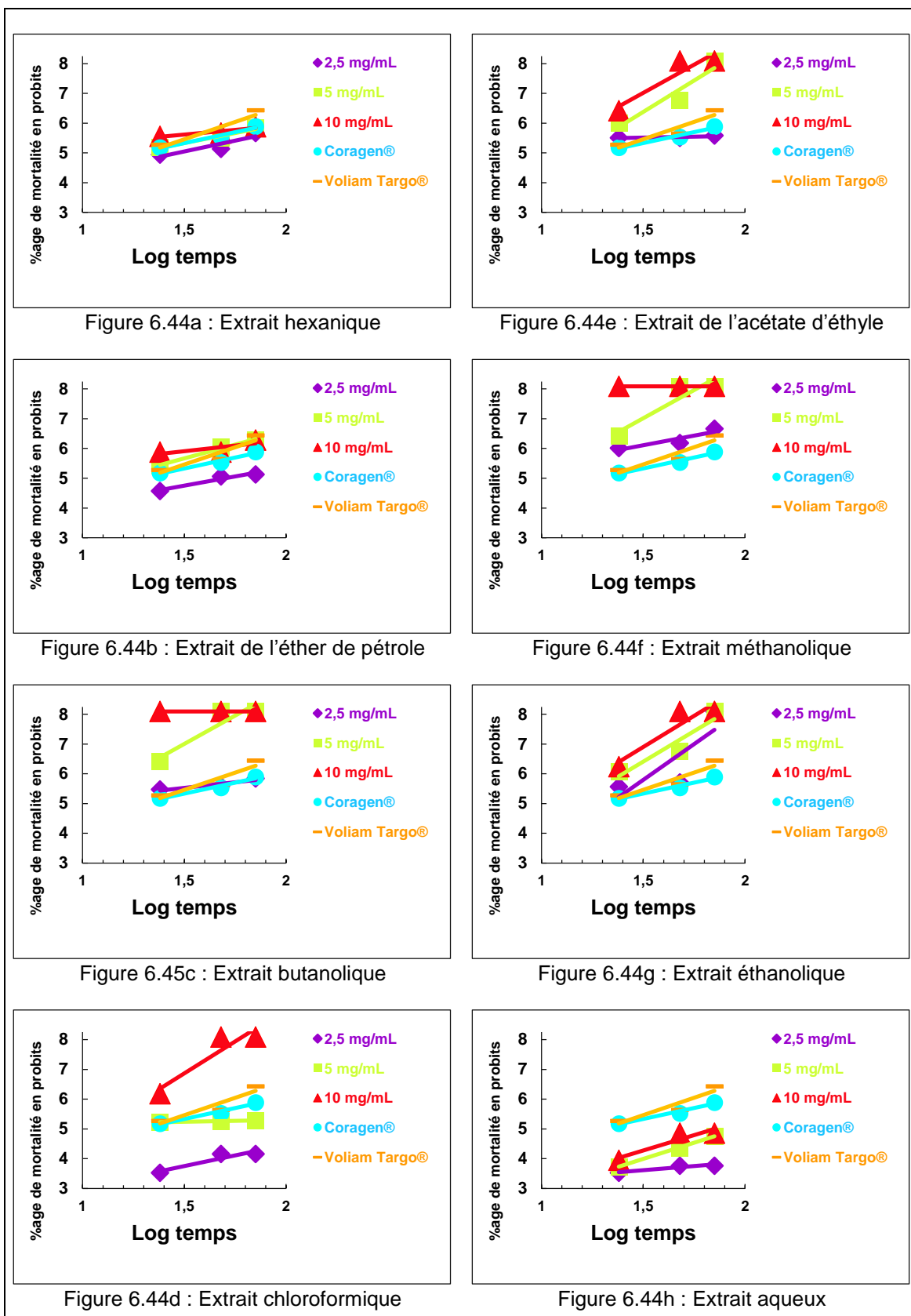


Figure 6.44 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L3 *T. absoluta*)



Les TL<sub>50</sub> ont été calculés à partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.44. Ainsi, les valeurs des TL<sub>50</sub> obtenues sont mentionnées dans le tableau 6.26.

Tableau 6.26 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Concentration (mg/mL) Extraits (L3-D.C)	TL <sub>50</sub>		
	2,5	5	10
Hexanique	29 h et 11 min	17 h et 59 min	13 h et 31 min
Ether de pétrole	50 h et 22 min	32 h et 47 min	12 h et 16 min
Butanolique	21 h et 52 min	9 h et 23 min	6 h et 05 min
Chloroformique	236 h et 19 min	146 h et 47 min	11 h et 39 min
Acétate d'éthyle	33 h et 38 min	14 h et 52 min	9 h et 17 min
Méthanolique	9 h et 23 min	9 h et 17 min	8 h et 37 min
Ethanolique	21 h et 38 min	19 h et 32 min	11 h et 08 min
Aqueux	11308 h et 33 min	91 h et 53 min	71 h et 08 min
Coragen®	/	/	18 h et 49 min
Voliam Targo®	/	/	20 h et 02 min

D'après ce tableau, on constate que les TL<sub>50</sub> les plus faibles correspondent à la plus forte concentration testée (10 mg/mL) et aux extraits alcooliques aussi.

Les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés que ceux enregistrés avec les extraits alcooliques à la forte concentration de 10 mg/mL.

#### 6.7.6. Activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des (L3) de *T. absoluta*

L'analyse de l'activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* sur les (L3) de *T. absoluta* est étalé dans le tableau 6.27.

Tableau 6.27 : Effets de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L3-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (µL/L)					Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	23,98	28,06	44	52,04	67,98	4,29	4,42	4,85	5,05	5,47
48	26,07	34,81	47,85	60,89	78,23	4,36	4,61	4,65	5,28	5,78
72	29,98	34,93	50,02	64,92	79,91	4,48	4,61	4,75	5,39	5,84
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	57,14	/	/	/	/	5,18
48	/	/	/	/	70,37	/	/	/	/	5,53
72	/	/	/	/	81,48	/	/	/	/	5,89
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	60,71	/	/	/	/	5,27
48	/	/	/	/	74,06	/	/	/	/	5,64
72	/	/	/	/	92,59	/	/	/	/	6,43

Les résultats présentés dans le tableau 6.27, montrent que les taux de la mortalité larvaire sont importants chez les (L3), ils sont supérieurs à 50 % après 24 h seulement aux doses 400 et 800 µL/L.

Tandis que pour les doses 200 µL/L, le taux de mortalité dépasse les 50 % qu'après 72 h. Concernant les doses 50 et 100 µL/L, les taux de mortalité ne dépassent pas 50 % pour toutes les durées d'exposition.

Les deux insecticides chimiques ont montré une toxicité supérieure à 50 % pour tous les temps d'exposition, elle correspond à la mortalité causée par l'H.E à la dose de 800 µL/L.

#### 6.7.6.1. Effets des traitements par l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses des sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

L'action des différentes doses de l'H.E sur les (L3) de *T. absoluta* a été interprétée par les DL<sub>50</sub>, et représentée dans la figure 6.45.

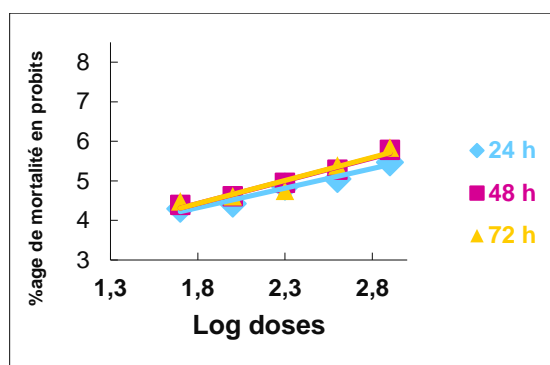


Figure 6.45 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L3 *T. absoluta*)

A partir la figure 6.45, on a calculé les DL<sub>50</sub> de l'H.E de *D. carota ssp. carota* à partir des droites de régression, elles sont renseignées dans le tableau 6.28.

Tableau 6.28 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L3-D.C)	DL <sub>50</sub> (µL/L)		
	24	48	72
H.E	306,86	201,1	167,76

D'après ce tableau, on constate que les DL<sub>50</sub> diminuent avec l'augmentation de la durée d'exposition, la DL<sub>50</sub> la plus faible correspond à 167,76 µL/L (la moyenne dose).

#### 6.7.6.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* à différentes doses sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

L'efficacité du traitement par l'H.E de *D. carota ssp. carota* a été interprétée par les TL<sub>50</sub> représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.46.

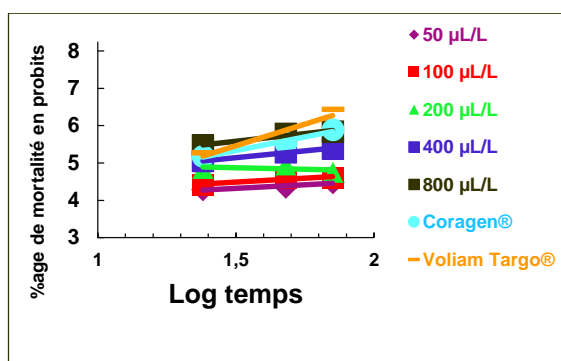


Figure 6.46 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* (L3 *T. absoluta*)

Les résultats obtenus à partir des droites régression du logarithme du temps en fonction des probits nous ont permis de déterminer les TL<sub>50</sub> de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*, ils sont présentés dans le tableau 6.29.

Tableau 6.29 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L3-D.C)	Doses (µL/L)	TL <sub>50</sub>				
		D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
H.E		1832 h et 24 min	493 h et 12 min	48 h et 01 min	20 h et 22 min	06 h et 04 min

Les TL<sub>50</sub> diminuent en fonction de l'augmentation des doses, la durée la plus courte est de 6 h et 04 min, est obtenue avec la dose 800 µL/L.

#### 6.7.7. Activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des (L4) de *T. absoluta*

Les résultats du traitement par les E.M.Ls des (L4) sont présentés dans le tableau 6.30.

Tableau 6.30 : Effets des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L4-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	39,13	65,21	65,21	4,73	5,40	5,40
48	40,90	72,73	72,73	4,77	5,60	5,60
72	76,18	75	80,94	5,72	5,67	5,88
<b>Ether de pétrole</b>						
24	37,50	70,82	70,82	4,68	5,54	5,54
48	37,50	83,32	83,32	4,68	5,96	5,96
72	41,66	91,66	91,66	4,79	6,36	6,36
<b>Butanolique</b>						
24	70,37	92,59	92,59	5,53	6,42	6,42
48	77,77	100	100	5,76	8,09	8,09
72	77,77	100	100	5,76	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	4,34	52,17	91,30	3,26	5,05	6,35
48	6,66	53,32	93,32	3,47	5,09	6,49
72	6,66	53,32	93,32	3,47	5,09	6,49
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	67,86	78,57	89,29	5,47	5,78	6,24
48	70,37	92,59	100	5,53	6,42	8,09
72	72	100	100	5,58	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	82,14	89,29	100	5,93	6,24	8,09
48	85,71	100	100	6,06	8,09	8,09
72	92,59	100	100	6,43	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	68,97	86,20	89,65	5,50	6,09	6,25
48	71,43	96,42	100	5,56	6,76	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	3,33	10	30	3,13	3,72	4,48
48	6,9	24,13	31,03	3,48	4,30	4,50
72	10,34	41,37	41,38	3,73	4,78	4,78
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	53,33	/	/	5,09
48	/	/	72,41	/	/	5,59
72	/	/	82,75	/	/	5,95
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	56,66	/	/	5,17
48	/	/	82,75	/	/	5,95
72	/	/	93,10	/	/	6,49

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 6.30, les différents traitements des (L4) de *T. absoluta* par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* sont interprétés comme suit :

a.L'extrait hexanique : à la concentration 2,5 mg/mL, les taux de mortalité des (L4), dépassent 50 % uniquement pour la durée de 72 h.

Par ailleurs, les taux de mortalité dépassent les 50 % pour les concentrations de 5 et 10 mg/mL après 24 h seulement, pour atteindre respectivement 75 et 80,94 % après 72 h.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité sont faibles, ils se situent entre 37,5 et 41,66 % pour les trois durées d'exposition.

Tandis que pour les autres concentrations, 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont bons, ils varient entre 70 et 91,66 % pour toutes les durées d'exposition.

c.L'extrait butanolique : l'activité insecticide de cet extrait est toujours efficace contre les (L4), les pourcentages de mortalité dépassent les 70,37 % pour toutes les concentrations et pour toutes les durées d'exposition aussi.

d.L'extrait chloroformique : à la faible concentration 2,5 mg/mL, les taux de mortalité sont non significatifs pour les trois durées d'exposition, ils se situent entre 4,34 et 6,66 % seulement.

Par contre ils sont moyens à la concentration 5 mg/mL et très bons à la concentration 10 mg/mL et ce pour toutes les durées d'exposition.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : les taux de mortalité sont très forts pour les trois temps d'exposition. Ils oscillent entre de 67,86 à 100 % pour les trois concentrations testées.

f.L'extrait méthanolique : les taux de mortalité sont supérieurs à 82,14 % pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées.

g. L'extrait éthanolique : cet extrait exerce une bonne activité sur les (L4), d'où les taux de mortalité varient entre 68,77 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i. L'extrait aqueux : les taux de mortalité ne dépassent pas les 50 % aux différentes concentrations testées, et aux différents temps d'exposition cet extrait se montre inefficace, sachant que le taux de mortalité est négligeable à la durée de 24 h.

j. Les traitements chimiques : les insecticides chimiques ont une activité moyenne après 24 h d'exposition. Par contre cette activité devient importante après 48 h d'exposition seulement.

A la lumière ces résultats, on conclue que les extraits polaires sont plus efficaces que les extraits non polaires sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*.

Par contre, l'extrait chloroformique est inefficace à la faible concentration. Tandis que l'extrait aqueux s'avère inefficaces à toutes les concentrations et à toutes les durées d'exposition.

Les extraits alcooliques sont toujours plus efficaces que les traitements chimiques même aux faibles concentrations (2,5 mg/mL).

A la lumière de ces résultats, on constate que les extraits alcooliques de *D. carota* ssp. *carota* ont une activité insecticide plus efficaces sur les quatre stades larvaires de *T. absoluta* que les traitements chimiques. Tandis que les autres extraits montrent des variations dans l'efficacité qui sont traduites par le développement larvaire, car les larves les plus jeunes s'avèrent plus sensibles que les larves les moins jeunes.

#### 6.7.7.1. Effets des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Dans le but d'évaluer les DL<sub>50</sub> des différents E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* testés sur les (L4) de *T. absoluta*, on a tracé les droites de régression qui sont représentées dans la figure 6.47.

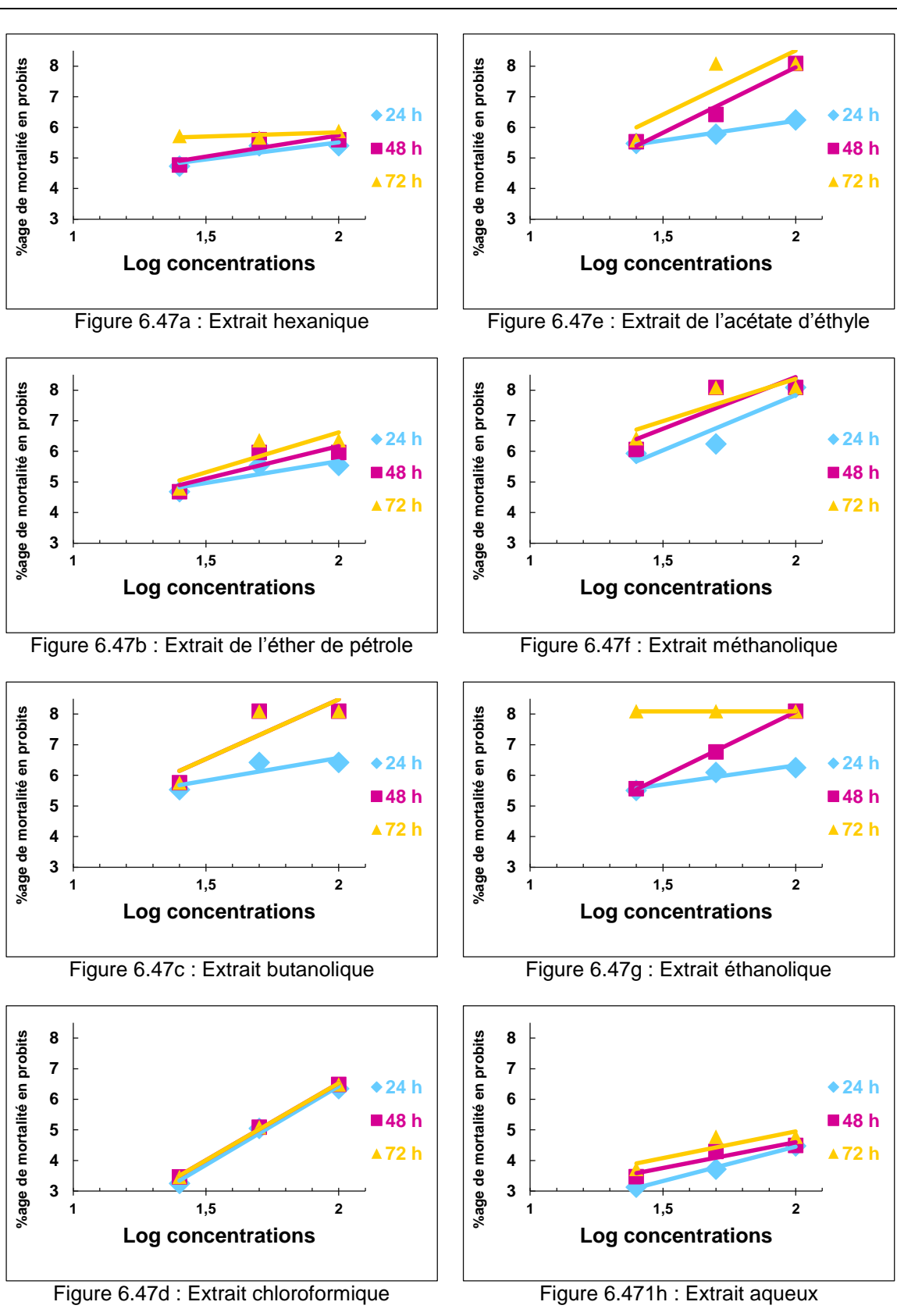


Figure 6.47 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L4 *T. absoluta*)



Les DL<sub>50</sub> ont été calculées à partir des droites de régression représentées dans la figure 6.47, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.31.

Tableau 6.31 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Extraits (L4-D.C)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
		24	48	72
Hexanique		3,49	2,9	1,59
Ether de pétrole		3,44	2,82	2,40
Butanolique		2,23	1,72	1,72
Chloroformique		5,27	4,97	4,97
Acétate d'éthyle		1,45	2,03	1,43
Méthanolique		1,63	0,97	0,61
Ethanolique		2,2	1,87	/
Aqueux		17,52	17,52	10,61

L'analyse des DL<sub>50</sub> après 24, 48 et 72 h d'exposition montre qu'elles sont inférieures à la concentration minimale de l'essai de (2,5 mg/mL) pour l'extrait de l'éther de pétrole, l'extrait de l'acétate d'éthyle et les extraits alcooliques. Toutefois pour cette même concentration, les taux de mortalité obtenus dépassent les 50 %. Par contre aux concentrations 5 et 10 mg/mL et pour tous les temps d'exposition, on a enregistré des pourcentages de mortalité excédant les 50 %. Pour tous les traitements, les valeurs des DL<sub>50</sub> sont inversement proportionnelles aux temps d'exposition.

### 3.7.7.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

L'efficacité de la durée d'exposition des (L4) aux différents E.M.Ls a été également estimée par les TL<sub>50</sub> représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.48.

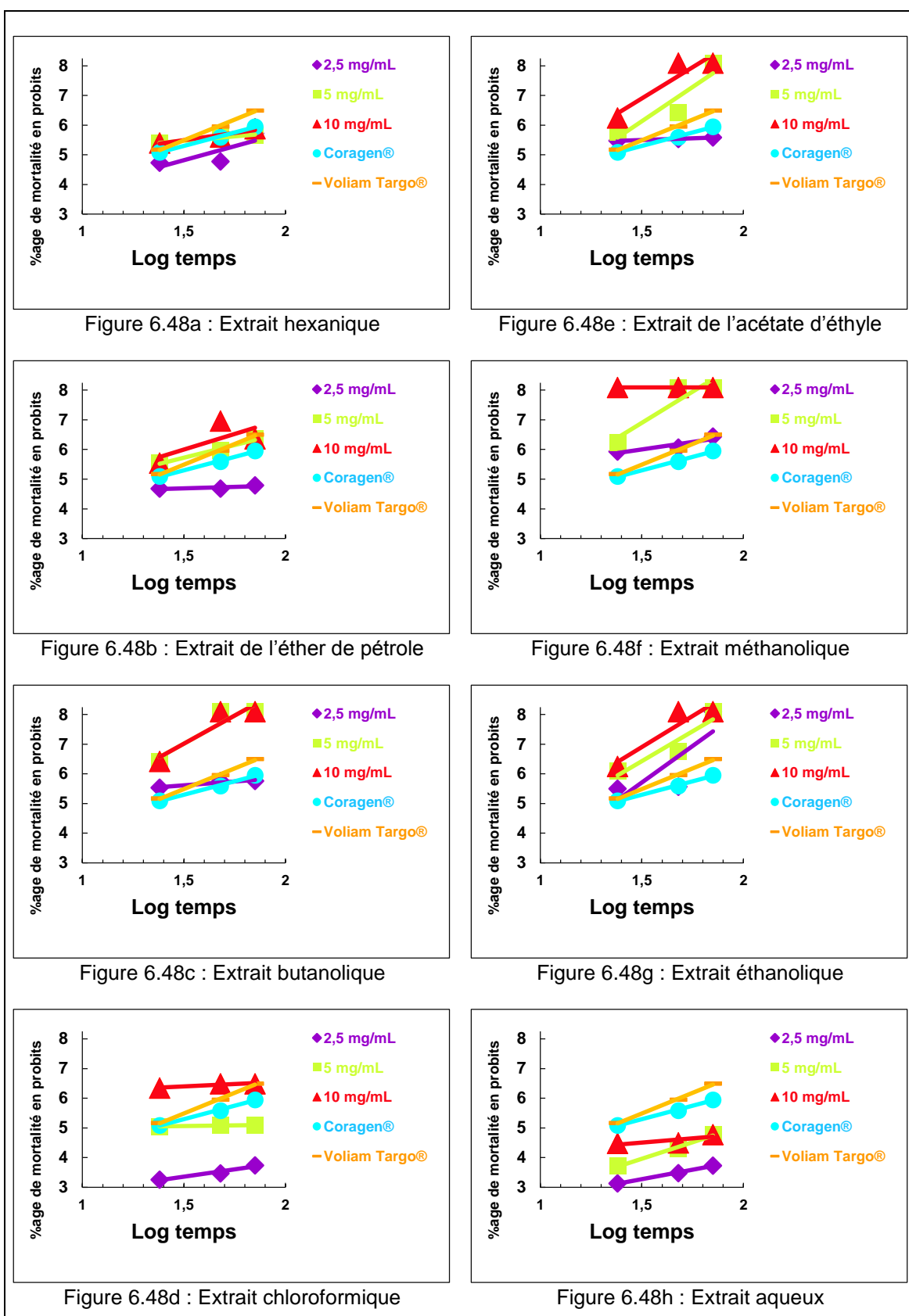


Figure 6.48 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* (L4 *T. absoluta*)

Les TL<sub>50</sub> ont été calculés à partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.48, les valeurs des TL<sub>50</sub> obtenues sont mentionnées dans le tableau 6.32.

Tableau 6.32 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (E.M.Ls, D.C)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L4-D.C)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	39 h et 36 min	19 h et 55 min	19 h et 59 min
Ether de pétrole	110 h et 32 min	46 h et 11 min	14 h et 37 min
Butanolique	22 h et 04 min	9 h et 17 min	9 h et 17 min
Chloroformique	1488 h et 33 min	150 h et 35 min	15 h et 21 min
Acétate d'éthyle	36 h et 45 min	17 h et 55 min	11 h et 08 min
méthanolique	12 h et 34 min	11 h et 08 min	8 h et 37 min
Ethanolique	22 h et 37 min	13 h et 57 min	11 h et 02 min
Aqueux	92 h et 38 min	92 h et 53 min	179 h et 42 min
Coragen®	/	/	21 h et 43 min
Voliam Targo®	/	/	21 h et 07 min

A la suite de la lecture du tableau 6.32, on constate que les TL<sub>50</sub> les plus faibles sont obtenus avec la plus forte concentration testée (10 mg/mL) et avec les extraits alcooliques aussi.

Les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés avec ceux enregistrés avec les extraits alcooliques à la forte concentration de 10 mg/mL.

#### 6.7.8. Activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à l'égard des (L4) de *T. absoluta*

L'analyse de l'activité insecticide de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* sur les (L4) de *T. absoluta* est étalée dans le tableau 6.33.

Tableau 6.33 : Effets de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L4-D.C)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (µL/L)					Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	26,87	30,79	34,6	53,86	61,48	4,39	4,5	4,6	5,1	5,29
48	29,12	33,25	37,5	58,25	66,62	4,45	4,57	4,68	5,21	5,43
72	31,88	36,38	45,5	63,62	72,75	4,53	4,65	4,88	5,35	5,6
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	53,33	/	/	/	/	5,09
48	/	/	/	/	72,41	/	/	/	/	5,59
72	/	/	/	/	82,75	/	/	/	/	5,95
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	56,66	/	/	/	/	5,17
48	/	/	/	/	82,75	/	/	/	/	5,95
72	/	/	/	/	93,10	/	/	/	/	6,49

Selon les résultats exposés dans le tableau 6.33, on déduit que les taux de la mortalité larvaire sont forts avec la dose 800 µL/L, ils dépassent les 50 % après 24 h seulement pour atteindre 72,75 % après 72 h d'exposition.

Concernant la dose 400 µL/L pour toutes les durées d'exposition, ils sont moyens. Par contre les autres doses 200, 100 et 50 µL/L, les taux de mortalité sont considérés faibles pour toutes les durées d'exposition.

Le Coragen® et le Voliam Targo® ont montré une toxicité supérieure à 50 % pour tous les temps d'exposition. Cette toxicité est proche de celle causée par l'H.E à la dose de 800 µL/L.

#### 6.7.8.1. Effets des traitements par l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* à différentes doses des sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

L'efficacité des différentes doses sur les (L4) de *T. absoluta* a été traduite par les DL<sub>50</sub> qui sont représentées dans la figure 6.49.

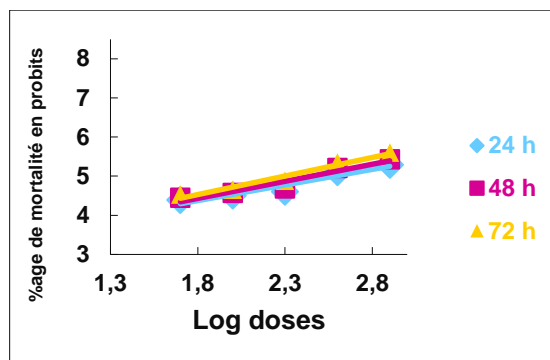


Figure 6.49 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L4 *T. absoluta*)

A partir la figure 6.49, on a calculé les  $DL_{50}$  obtenues avec l'H.E de *D. carota ssp. carota* à des intervalles de temps variés, elles sont présentées dans le tableau 6.34.

Tableau 6.34 : Résultats des  $DL_{50}$  de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L4-D.C)	Temps (h)	$DL_{50}$ ( $\mu\text{L/L}$ )		
		24	48	72
H.E		380,19	285,08	199,62

Les résultats mentionnés dans ce tableau, montrent que la  $DL_{50}$  la plus faible est obtenue après 72 h d'exposition au traitement, elle est de 199,62  $\mu\text{L/L}$  et elle correspond à la moyenne dose de 200  $\mu\text{L/L}$ .

#### 6.7.8.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* à différentes doses sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Les droites de régressions montrées dans la figure 6.50, nous ont permis d'estimer l'efficacité de la durée du traitement par l'H.E de *D. carota ssp. carota* qui a été interprétée par les  $TL_{50}$ .

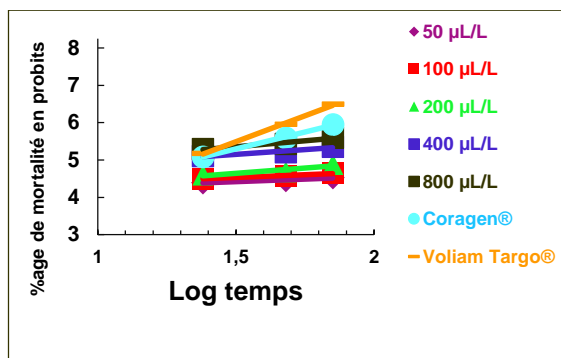


Figure 6.50 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *D. carota ssp. carota* (L4 *T. absoluta*)

Les résultats obtenus à partir des droites de régression du logarithme du temps en fonction des probits nous ont permis de déterminer les TL<sub>50</sub> de l'H.E de *D. carota ssp. carota* qui sont présentés dans le tableau 6.35.

Tableau 6.35 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (H.E, D.C)

Extrait (L4-D.C)	Doses (µL/L)	TL <sub>50</sub> (h)				
		D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
H.E		3483 h et 03 min	1045 h et 43 min	137 h et 58 min	16 h et 15 min	8 h et 53 min

Les TL<sub>50</sub> diminuent en fonction de l'augmentation des doses, la durée la plus courte est de 11 h et 58 min, elle est enregistrée avec la dose la plus forte de 800 µL/L.

A la lumière des résultats obtenus, on remarque que les extraits alcooliques de *D. carota ssp. carota* agissent d'une manière très efficace sur les quatre stades larvaires de *T. absoluta* avec des DL<sub>50</sub> et des TL<sub>50</sub> très réduits.

Tandis que, les H.Es sont moins efficaces que les extraits alcooliques même à forte dose. Mais les DL<sub>50</sub> et les TL<sub>50</sub> restent toujours faibles.

Par ailleurs, la dose de l'extrait testé ainsi que le temps d'exposition sont en relation directe avec les taux de mortalité, plus on augmente la dose, plus l'extrait est efficace, et plus le temps est étalé, plus le traitement est efficace.

6.8. Activité insecticide des E.Vx de *T. numidicus* à l'égard des larves de *T. absoluta*

Après avoir exposé les larves de *T. absoluta* de différents stades de développement aux E.Vx *T. numidicus* aux concentrations et aux doses croissantes pendant, 24, 48 et 72, les taux de mortalité ont varié selon la concentration, le stade de développement et le produit testé aussi.

6.8.1. Activité insecticide des E.M.Ls de *T. numidicus* à l'égard des (L1) de *T. absoluta*

Le tableau 6.36, montre la variation de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* en fonction de la durée d'exposition au traitement, en fonction de la concentration du traitement, et en fonction de la nature du traitement aussi.

Tableau 6.36 : Effets des E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L1-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	57,14	85,71	100	5,18	6,06	8,09
48	63,62	90,89	100	5,34	6,31	8,09
72	63,62	90,89	100	5,34	6,31	8,09
<b>Ether de pétrole</b>						
24	57,89	73,68	94,73	5,20	5,63	6,57
48	66,66	77,77	100	5,43	5,76	8,09
72	66,66	83,33	100	5,43	5,96	8,09
<b>Butanolique</b>						
24	71,43	100	100	5,56	8,09	8,09
48	80,94	100	100	5,88	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	20	73,32	100	4,16	5,62	8,09
48	20	80	100	4,16	5,84	8,09
72	30	80	100	4,48	5,84	8,09
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	72,73	90,90	100	5,60	6,32	8,09
48	80	100	100	5,84	8,09	8,09
72	80	100	100	5,84	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	96	96	100	6,75	6,75	8,09
48	100	100	100	8,09	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	92	100	100	6,41	8,09	8,09
48	96	100	100	6,75	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	23,08	69,23	84,61	4,26	5,51	6,01
48	26,08	69,56	86,96	4,36	5,52	6,13
72	28,57	71,43	90,47	4,43	5,57	6,29
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	73,07	/	/	5,61
48	/	/	82,60	/	/	5,93
72	/	/	95,23	/	/	6,65
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	88,46	/	/	6,19
48	/	/	95,64	/	/	6,66
72	/	/	100,00	/	/	8,09



Le tableau 6.36, montre la variation de la mortalité des (L1), en fonction des concentrations des E.M.Ls de *T. numidicus*, et du temps d'exposition aux différents traitements aussi.

a.L'extrait hexanique : à la concentration de 2,5 mg/mL, les taux de la mortalité des (L1), sont moyens à bons après 24, 48 et 72 h d'exposition, ils varient entre 57,14 et 63,62 %.

Tandis qu'à la concentration 5 mg/mL, les taux de mortalité atteignent 85,71 % après 24 h seulement pour arriver à un maximum de 90,89 % après 24 h d'exposition seulement. Pour la concentration de 10 mg/mL, après 24 h d'exposition seulement, les taux de mortalité sont de 100 %.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : à la concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité oscillent entre 57,89 et 66,66 % après 24, 48 et 72 h d'exposition.

Concernant la concentration 10 mg/mL, cet extrait réagit sur la longévité des (L1), l'activité insecticide est bonne avec un pourcentage de mortalité allant de 73,68 à 83,33 % pour les trois durées d'exposition. Les taux de mortalité sont très élevés à la concentration 10 mg/mL, ils sont de 94,73 % après 24 d'exposition et 100 % après 48 et 72 h d'exposition.

c.L'extrait butanolique : cet extrait a une très bonne activité pour toutes les concentrations et pour tous les temps d'exposition aussi. Les pourcentages de mortalité varient entre 71,43 et 100 %.

d.L'extrait chloroformique : à la faible concentration 2,5 mg/mL, l'activité insecticide enregistrée est très faible, elle balance entre 20 et 30 % pour les trois durées d'exposition. Par contre aux concentrations 50 et 10 mg/mL, les taux de mortalité enregistrés augmentent considérablement pour atteindre 73,32 et 100 % après 24 h d'exposition.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : les taux de mortalité sont très forts avec les trois concentrations testées, soit ; 2,5 - 5 et 10 mg/mL, pour les trois temps d'exposition. Ils varient entre 72,73 et 100 %.

f.L'extrait méthanolique : l'activité insecticide s'avère très importante pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées. Ainsi, les taux de mortalité sont compris entre 96 et 100 %.

g.L'extrait éthanolique : les (L1) sont très sensibles à cet extrait, on a enregistré des taux de mortalités oscillent entre 92 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i.L'extrait aqueux : cet extrait est inefficace à la faible concentration de 2,5 mg/mL pour les trois durées d'exposition. Les pourcentages de mortalité varient entre 23,08 et 28,57 % seulement. Ce même extrait se montre efficace aux concentrations de 5 et 10 mg/g, avec des taux de mortalité moyens à bons, ils sont compris entre 69,23 et 90,47 % pour les trois durées de traitement.

j.Les traitements chimiques : le Coragen® et le Voliam Targo® montrent une efficacité remarquable sur les (L1) après 24 h d'exposition seulement entre 73,07 et 88,46 % respectivement.

On constate que l'activité insecticide des extraits alcooliques ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle est très remarquable après 24 h d'exposition seulement et à la plus faible concentration de 2,5 mg/mL. Mais elle reste relativement plus faible que celle des extraits alcooliques.

Par contre, l'extrait de l'éther de pétrole et l'extrait hexanique ont une activité insecticide moyenne à la faible concentration et pour toutes les durées d'exposition, et une très bonne activité par rapport aux autres concentrations et pour toutes les durées d'exposition aussi. Les extraits chloroformique et aqueux présentent des taux de mortalité très faibles à la faible concentration et des taux moyens à bons aux concentrations 5 et 10 mg/mL et ce pour toutes les durées d'exposition.

#### 6.8.1.1. Effets des traitements par les E.M.Ls *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

L'efficacité des trois concentrations testées obtenues à partir de ces E.M.Ls de *T. numidicus* sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta* a été estimée par les DL<sub>50</sub> représentées par les droites de régression dans la figure 6.51.

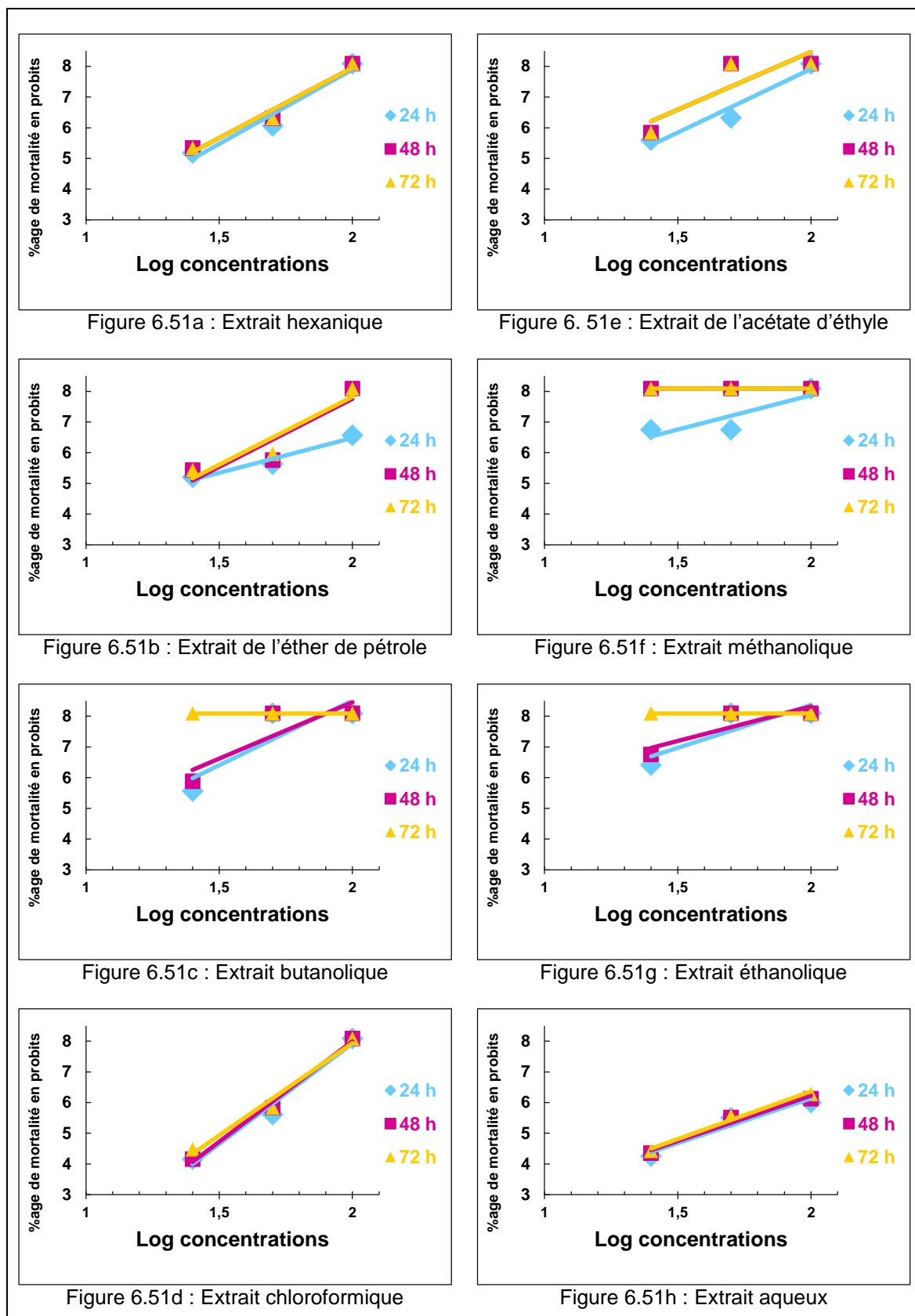


Figure 6.51 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *T. numidicus* (L1 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression illustrées dans la figure 3.51, on a calculé les DL<sub>50</sub>. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 6.37.

Tableau 6.37 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Extraits (L1-T.N)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
	24	48	72
Hexanique	2,53	2,27	2,27
Ether de pétrole	2,53	2,31	2,24
Butanolique	1,74	1,51	/
Chloroformique	3,58	3,49	3,24
Acétate d'éthyle	1,98	1,19	1,19
Méthanolique	2,78	/	/
Ethanolique	1,63	1,40	/
Aqueux	4,09	3,81	3,63

L'analyse des DL<sub>50</sub> après 72 h d'exposition montre qu'elles sont toutes inférieures à la concentration minimale de l'essai de (2,5 mg/mL) à l'exception de l'extrait aqueux qui est de 3,63 mg/mL.

Pour tous les traitements, les valeurs des DL<sub>50</sub> sont inversement proportionnelles aux temps d'exposition. En effet, plus la DL<sub>50</sub> est faible, plus l'extrait est plus actif.

#### 6.8.1.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

Les droites de régression présentées dans la figure 6.52, nous renseignent sur l'efficacité de la durée d'exposition des (L1) aux différents extraits qui est estimée par les TL<sub>50</sub>.

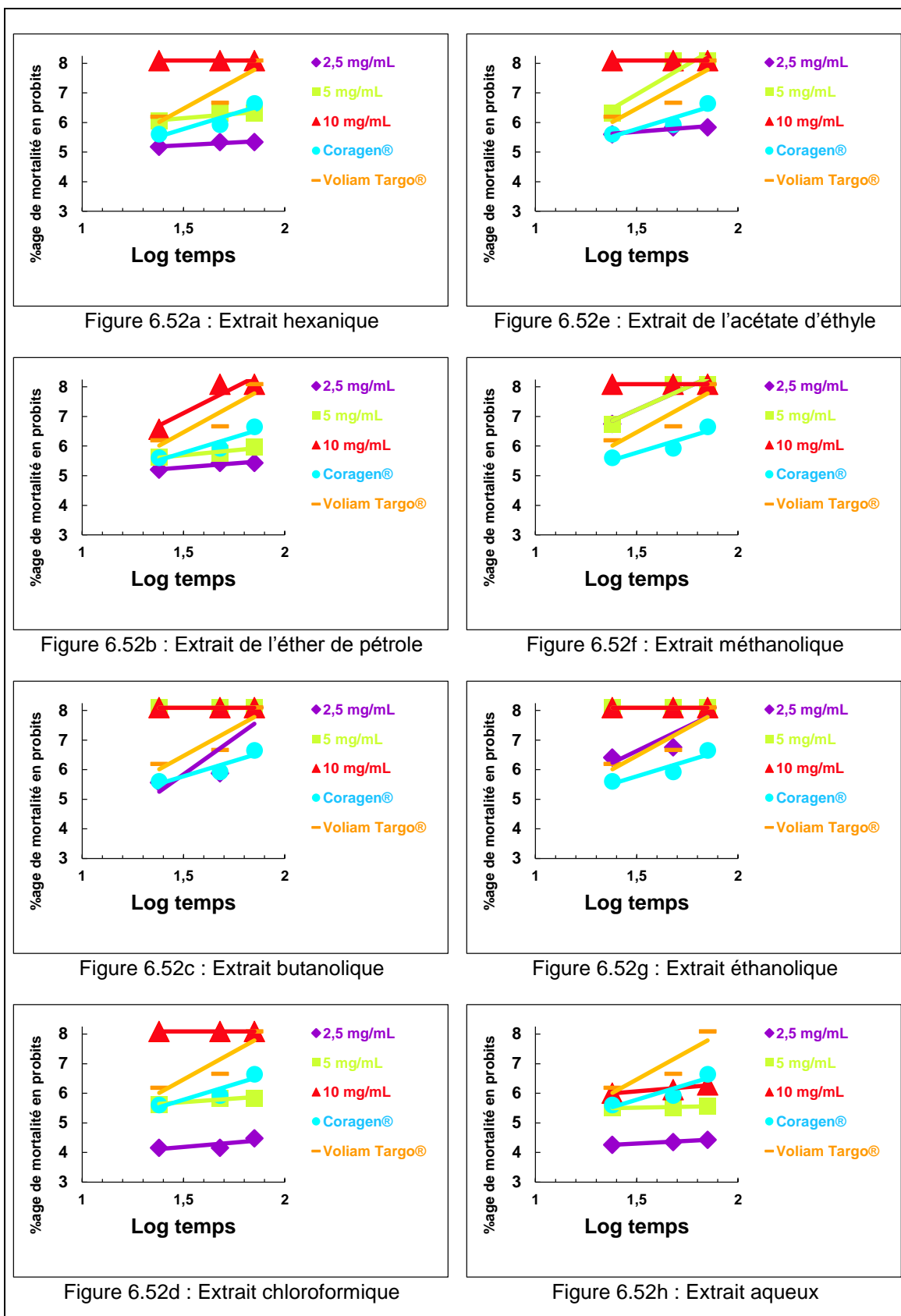


Figure 6.52 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* (L1 *T. absoluta*)

Les TL<sub>50</sub> ont été calculés à partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.52. Le tableau 6.38, montre les valeurs des TL<sub>50</sub> obtenues.

Tableau 6.38 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L1-T.N)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	17 h et 19 min	7 h et 3 min	8 h et 37 min
Ether de pétrole	9 h et 7 min	7 h et 42 min	2 h et 58 min
Butanolique	21 h et 16 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Chloroformique	/	42 h et 24 min	12 h et 33 min
Acétate d'éthyle	22 h et 11 min	10 h et 3 min	8 h et 37 min
Méthanolique	5 h et 50 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Ethanolique	10 h et 6 min	9 h et 23 min	8 h et 37 min
Aqueux	2853 h et 2 min	204 h et 20 min	36 h et 28 min
Coragen®	/	/	13 h et 22 min
Voliam Targo®	/	/	12 h et 53 min

Le tableau 6.38, montre que les TL<sub>50</sub> obtenus sont en relation directe avec la nature de l'extrait et la concentration testée aussi. Les TL<sub>50</sub> les plus faibles sont enregistrés avec la plus forte concentration (10 mg/mL) et avec les extraits alcooliques aussi. Les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés que ceux enregistrés avec les extraits alcooliques à la forte et à la moyenne concentration.

#### 6.8.2. Activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* à l'égard des (L1) sur *T. absoluta*

L'activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta* est représentée dans le tableau 6.39.

Tableau 6.39 : Effets de l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L1-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (µL/L)					Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	47,85	56,45	69,49	82,53	86,96	4,95	5,16	5,51	5,94	6,13
48	56,45	69,49	86,96	95,57	95,57	5,16	5,51	6,13	6,7	6,7
72	73,66	84,23	100	100	100	5,63	6,09	8,09	8,09	8,09
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	73,07	/	/	/	/	5,61
48	/	/	/	/	82,60	/	/	/	/	5,93
72	/	/	/	/	95,23	/	/	/	/	6,65
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	88,46	/	/	/	/	6,19
48	/	/	/	/	95,64	/	/	/	/	6,66
72	/	/	/	/	100	/	/	/	/	8,09

D'après le tableau 6.39, on remarque que l'H.E testée présente une activité insecticide importante à l'égard des (L1) de *T. absoluta*, elle augmente en fonction des doses et en fonction de la période d'exposition aussi.

Les taux de mortalité enregistrés aux doses 800 et 400 µL/L sont respectivement de 86,96 et 82,53 % après 24 h, et de 95,57 et 100 % après 48 et 72 h. A la moyenne dose soit ; 200 µL/L et pour les mêmes durées d'exposition, ils dépassent largement les 69,49 % pour atteindre 100 % après 72 h d'exposition. Par ailleurs aux doses de 50 et 100 µL/L, les taux de mortalité sont relativement moyens après 24 et 48 h d'exposition. Tandis qu'ils sont bons après 72 h, ils varient de 73,66 à 84,23 %.

De même, nous relevons que les taux de mortalité dus aux traitements chimiques sont moins élevés que ceux des traitements biocides. Pour le Coragen® ils varient entre 73,07 et 93,03 %, et pour le Voliam Targo®, ils sont compris entre 88,46 et 100 % pour les trois périodes d'exposition.

#### 6.8.2.1. Effets des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L1) de *T. absoluta*

L'efficacité des différentes doses de l'H.E de *T. numidicus* a été évaluée par les DL<sub>50</sub> illustrées par des droites de régression indiquées dans la figure 6.53.

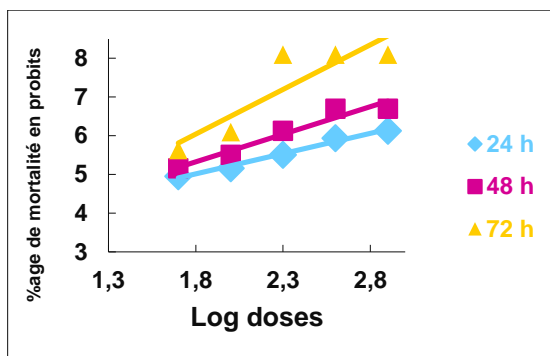


Figure 6.53 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *T. numidicus* (L1 *T. absoluta*)

Les droites de régression présentées dans la figure 6.53, nous ont permis de calculer les DL<sub>50</sub>. Le tableau 6.40 montre les différentes DL<sub>50</sub> obtenues avec l'H.E de *T. numidicus* à des intervalles de temps variés.

Tableau 6.40 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Extrait (L1-T.N)	DL <sub>50</sub> (µL/L)		
	24	48	72
H.E	61,34	37,15	22,27

D'après le tableau 6.40, on constate que les DL<sub>50</sub> obtenues après 48 et 72 h d'exposition sont de 37,15 et 22,27 µL/L respectivement, elles sont inférieures que la plus faible dose testée (50 µL/L).

#### 6.8.2.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses à l'égard des (L1) de *T. absoluta*

L'action de la durée du traitement par l'H.E de *T. numidicus* a été estimée par les TL<sub>50</sub> représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.54.



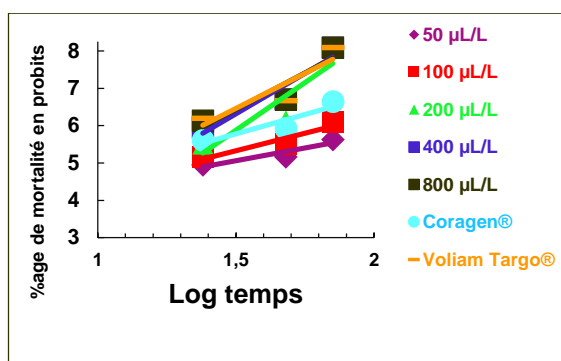


Figure 6.54 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* (L1 *T. absoluta*)

Les résultats obtenus à partir des droites de régression du logarithme du temps en fonction des probits nous ont permis de déterminer les TL<sub>50</sub> de l'H.E de *T. numidicus* qui sont présentés dans le tableau 6.41.

Tableau 6.41 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L1) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Extrait (L1-T.N)	Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
H.E	28 h et 33 min	21 h et 12 min	21 h et 15 min	16 h et 8 min	13 h et 34 min

En augmentant les doses, les TL<sub>50</sub> diminuent. La durée la plus courte est de 13 h et 34 min, elle est obtenue avec la plus forte dose 800 µL/L.

### 6.8.3. Activité insecticide des E.M.Ls de *T. numidicus* à l'égard des (L2) de *T. absoluta*

Les résultats du traitement des (L2) par les E.M.Ls de *T. numidicus* sont présentés dans le tableau 6.42.

Tableau 6.42 : Effets des E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de *T absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L2-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	55	65	100	5,13	5,39	8,09
48	55,55	77,77	100	5,14	5,76	8,09
72	56,24	81,25	100	5,16	5,89	8,09
<b>Ether de pétrole</b>						
24	54,54	81,81	86,36	5,12	5,91	6,10
48	57,89	84,21	94,73	5,20	6,00	6,57
72	63,15	89,47	94,73	5,34	6,24	6,57
<b>Butanolique</b>						
24	68,17	100	100	5,47	8,09	8,09
48	71,43	100	100	5,56	8,09	8,09
72	95,23	100	100	6,65	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	14,29	64,28	82,84	3,93	5,37	5,95
48	15,39	69,22	100	3,97	5,51	8,09
72	15,39	69,22	100	3,97	5,51	8,09
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	80	92	96	5,84	6,41	6,75
48	81,81	100	100	5,91	8,09	8,09
72	85,71	100	100	6,06	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	92,30	100	100	6,42	8,09	8,09
48	96	100	100	6,75	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	84,61	100	100	6,01	8,09	8,09
48	88	100	100	6,18	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	12	44	60	3,82	4,85	5,25
48	12,5	45,82	62,5	3,83	4,89	5,32
72	12,5	45,82	62,5	3,83	4,89	5,32
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	60,00	/	/	5,25
48	/	/	70,82	/	/	5,54
72	/	/	87,50	/	/	6,14
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	72,22	/	/	5,58
48	/	/	83,32	/	/	5,96
72	/	/	95,82	/	/	6,66

a.L'extrait hexanique : à la concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité des (L2), après 24, 48 et 72 h d'exposition sont moyens, ils se situent entre 55 et 56,24 % seulement.

Par ailleurs à la concentration 5 mg/mL, ces taux de mortalité augmentent progressivement de 65 % après 24 h pour atteindre 81,25 % après 72 h d'exposition.

Par contre, à la concentration de 10 mg/mL, les taux de mortalité sont de 100 % pour les trois durées d'exposition.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : pour toutes les durées d'exposition, cet extrait à la concentration de 2,5 mg/mL a une activité moyenne de 54,54 à 63,15 %. Tandis pour les concentrations 5 et 10 mg/mL, ces taux sont importants, ils sont compris entre 81,81 et 94,73 % après 48 et 72 h d'exposition

c.L'extrait butanolique : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, le taux de mortalité est bon (68,17 %) après 24 h. Mais il augmente pour atteindre 95,23 % après 72 h et 100 % pour les deux autres concentrations et avec les trois durées d'exposition.

d.L'extrait chloroformique : des taux de mortalité très faibles sont obtenus à la concentration 2,5 mg/mL, après 24, 48 et 72 h d'exposition. A la moyenne concentration 5 mg/mL, l'activité insecticide de cet extrait est bonne, les pourcentages de mortalité se situent entre 64,28 et 69,22 % pour les différents temps d'exposition. Par contre à la concentration de 10 mg/mL, les taux de mortalité sont importants, ils dépassent largement 82 après 24 h seulement.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : cet extrait enregistre des taux de mortalité très importants aux trois concentrations testées (2,5 - 5 et 10 mg/mL) et pour les trois temps d'exposition, ils varient de 80 à 100 %.

f.L'extrait méthanolique : pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées, cet extrait s'avère très efficace avec des taux de mortalité allant de 92,30 à 100 %.

g.L'extrait éthanolique : les (L2) sont très sensibles à cet extrait, on a enregistré des taux de mortalité allant de 84,61 à 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i. L'extrait aqueux : après 24, 48 et 72 h d'exposition, à la faible concentration de 2,5 mg/mL, cet extrait s'avère inefficace pour toutes les durées d'exposition. Les taux de mortalité à la moyenne concentration de 5 mg/mL sont au-dessous de la moyenne (environ 40 %). Concernant la concentration 10 mg/mL, ils sont relativement moyens se situant entre 60 et 62,5 %.

j. Les traitements chimiques : le Coragen® et le Voliam Targo® montrent une efficacité remarquable sur les (L2) après 24 h d'exposition seulement, elle est respectivement entre 60 et 72,22 %. Ces taux dépassent les 70 % après 48 et 72 h d'exposition.

De ce fait, Il ressort du tableau 6.42, que l'activité biocide des différents extraits alcooliques ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle est très remarquable après 24 h d'exposition seulement et à la plus faible concentration de 2,5 mg/mL.

Les extraits de l'éther de pétrole et l'extrait hexanique donnent des taux de mortalité moyens des (L2) de *T. absoluta* à la faible concentration aussi mais après 72 h. Par contre les extraits chloroformique et aqueux donnent des taux de mortalité très faibles à moyens à la faible et à la moyenne concentration.

Par ailleurs, on constate que les extraits alcooliques présentent une activité meilleure que celle des traitements chimiques testés.

#### 6.8.3.1. Effets des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

L'activité biocide des E.M.Ls obtenus à partir des feuilles de *T. numidicus* sur les (L2) de *T. absoluta* a été estimée par les DL<sub>50</sub> représentées par les droites de régression indiquées dans la figure 6.55.

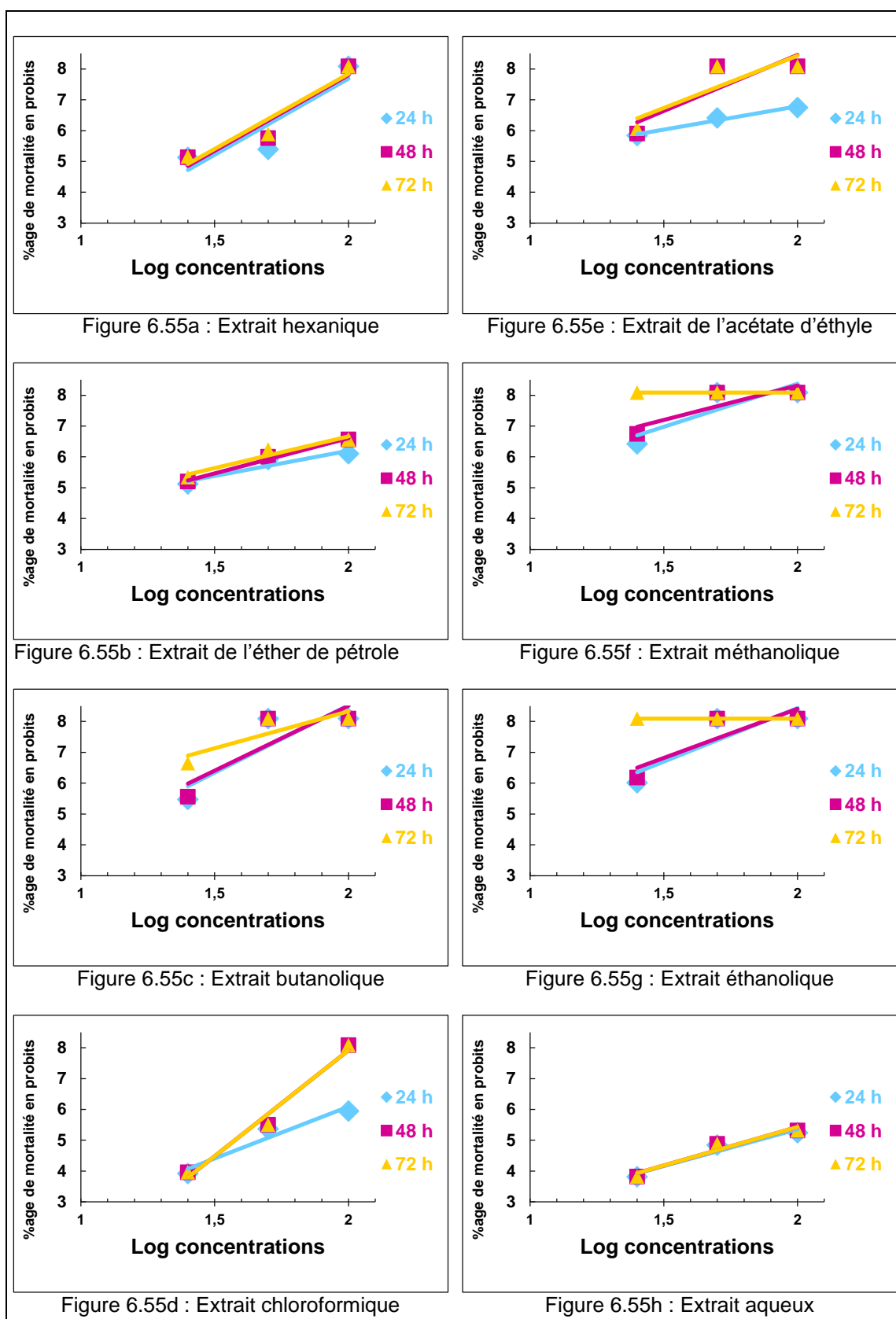


Figure 6.55 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *T. numidicus* (L2 *T. absoluta*)

A partir de la figure 6.55, on a calculé les DL<sub>50</sub>, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.43.

Tableau 6.43 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Extraits (L2-T.N)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
		24	48	72
Hexanique		2,86	2,68	2,61
Ether de pétrole		1,98	1,84	1,54
Butanolique		1,56	1,47	0,41
Chloroformique		4,74	3,76	3,76
Acétate d'éthyle		1,36	1,12	0,66
Méthanolique		0,62	0,38	0,33
Ethanolique		2,38	0,85	1
Aqueux		7,1	6,75	6,75

Toutes les DL<sub>50</sub> sont inférieures à la concentration de 5 mg/mL, après 24, 48 et 72 h d'exposition des (L2) de *T. absoluta* aux différents E.M.Ls de *T. numidicus*, à l'exception de l'extrait aqueux qui est située entre 6,75 et 7,1 mg/mL.

Les valeurs des DL<sub>50</sub> diminuent avec l'augmentation de la durée du traitement. De ce fait, les valeurs des DL<sub>50</sub> les plus faibles sont enregistrées après 72 h d'exposition.

#### 6.8.3.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

L'efficacité de la durée d'exposition des (L2) aux différents E.M.Ls a été également estimée par les TL<sub>50</sub> représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.56.

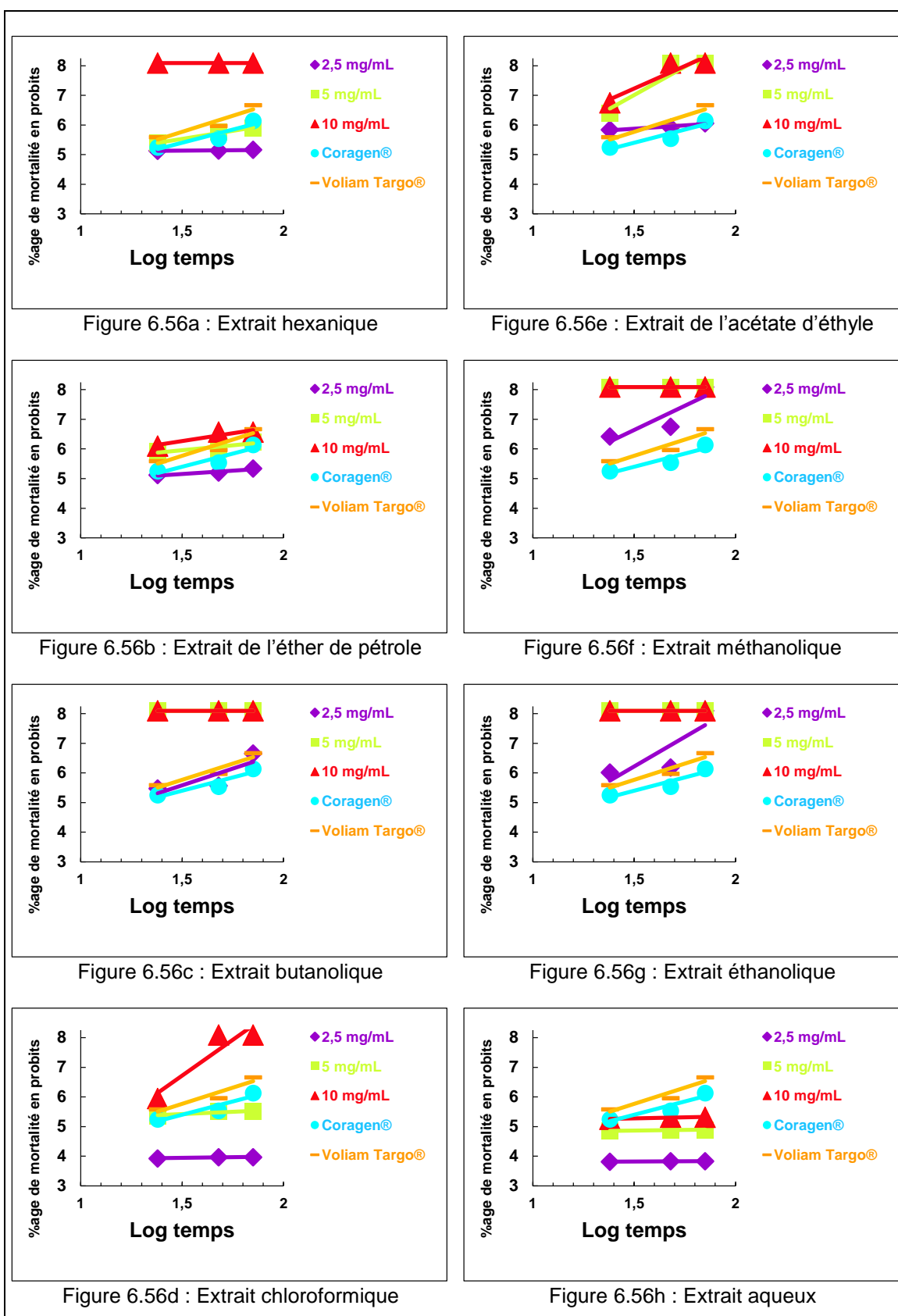


Figure 6.56 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* (L2 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.56, on a calculé les TL<sub>50</sub>. Le tableau 6.44, montre les valeurs des TL<sub>50</sub> obtenues.

Tableau 6.44 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L2-T.N)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	26 h et 71 min	710 h et 21 min	8 h et 37 min
Ether de pétrole	18 h et 2 min	13 h et 55 min	7 h et 28 min
Butanolique	17 h et 26 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Chloroformique	35 h et 13 min	27 h et 27 min	14 h et 01 min
Acétate d'éthyle	12 h et 39 min	9 h et 23 min	5 h et 50 min
Méthanolique	5 h et 50 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Ethanolique	10 h et 6 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Aqueux	/	1052 h et 30 min	851 h et 53 min
Coragen®	/	/	18 h et 55 min
Voliam Targo®	/	/	14 h et 03 min

D'après le tableau 6.44, les TL<sub>50</sub> les plus faibles correspondent toujours à la plus forte concentration testée (10 mg/mL) et aux extraits alcooliques aussi.

Les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés que ceux enregistrés avec tous les autres extraits sauf l'extrait aqueux à la forte concentration de 10 mg/mL.

#### 6.8.4. Activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* à l'égard des (L2) de *T. absoluta*

L'analyse de l'activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* à l'égard des (L2) de *T. absoluta* est étalée dans le tableau 6.45.



Tableau 6.45 : Effets de l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L2-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses ( $\mu\text{L/L}$ )					Doses ( $\mu\text{L/L}$ )				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	29,12	33,25	41,62	66,62	73,12	4,45	4,57	4,79	5,43	5,61
48	34,81	39,11	47,85	69,49	86,9	4,61	4,72	4,94	5,51	6,13
72	40,02	55,02	64,91	85,01	94,9	4,75	5,13	5,39	6,04	6,63
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	60,00	/	/	/	/	5,25
48	/	/	/	/	70,82	/	/	/	/	5,54
72	/	/	/	/	87,50	/	/	/	/	6,14
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	72,22	/	/	/	/	5,58
48	/	/	/	/	83,32	/	/	/	/	5,96
72	/	/	/	/	95,82	/	/	/	/	6,66

D'après les résultats exposés dans le tableau 6.45, on remarque une mortalité significative des (L2). Les pourcentages de mortalité dépassent les 50 % après 24 h seulement aux doses 400 et 800  $\mu\text{L/L}$  pour atteindre respectivement 85,01 et 94,9 % après 72 h.

Concernant les doses 100 et 200  $\mu\text{L/L}$ , les taux de mortalité dépassent 50 % après 72 h. Par contre, à la dose 50  $\mu\text{L/L}$ , les taux de mortalité ne dépassent pas les 40% pour toutes les durées d'exposition.

Les deux insecticides chimiques ont montré une toxicité supérieure à 50 % pour tous les temps d'exposition, mais elle est moins importante que celle enregistrée avec la dose 800  $\mu\text{L/L}$  après 24 h d'exposition seulement.

#### 6.8.4.1. Effets des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

L'effet des différentes doses sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta* a été interprété par les  $DL_{50}$ , et représenté dans la figure 6.57.

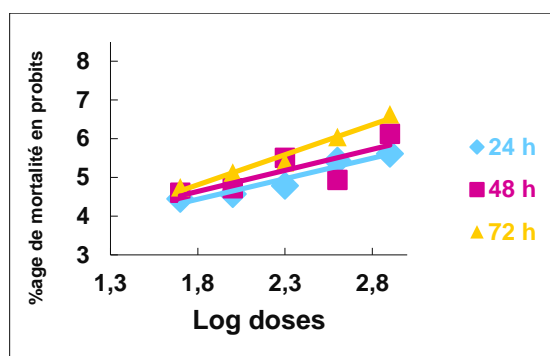


Figure 6.57 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *T. numidicus* (L2 *T. absoluta*)

On a calculé les DL<sub>50</sub> à partir des droites de régression représentées dans la figure 6.57. Le tableau 6.46, montre les différentes DL<sub>50</sub> obtenues avec l'H.E de *T. numidicus* à des intervalles de temps variés.

Tableau 6.46 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Extrait (L2-T.N)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (µL/L)		
		24	48	72
H.E		212,96	136,28	83,85

Ce tableau montre que la DL<sub>50</sub> la plus faible est obtenue après 72 h d'exposition au traitement, elle correspond à 83,85 µL/L.

#### 6.8.4.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L2) de *T. absoluta*

La durée de l'efficacité du traitement par l'H.E de *T. numidicus* a été interprétée par les TL<sub>50</sub>, qui sont représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.58.

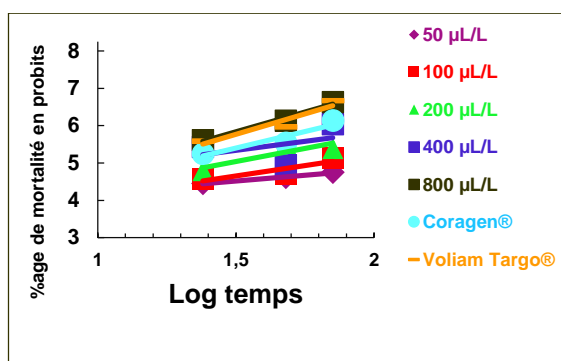


Figure 6.58 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* (L2 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression du logarithme du temps en fonction des probits, on a déterminé les TL<sub>50</sub> de l'H.E de *T. numidicus*. Ils sont présentés dans le tableau 6.47.

Tableau 6.47 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L2) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Doses (µL/L) Extrait (L2-T.N)	TL <sub>50</sub>				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
H.E	186 h et 53 min	64 h et 45 min	29 h et 48 min	14 h et 06 min	12 h et 48 min

Avec l'augmentation des doses, les TL<sub>50</sub> diminuent, le temps le plus court est obtenu avec la plus forte à 800 µL/L (12 h et 48 min).

#### 6.8.5. Activité insecticide des E.M.Ls de *T. numidicus* à l'égard des (L3) de *T. absoluta*

Les résultats du traitement des (L3) de *T. absoluta* par les E.M.Ls sont présentés dans le tableau 6.48.

Tableau 6.48 : Effets des E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L3-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	48,08	57,14	85,71	4,95	5,18	6,06
48	55	60	90	5,13	5,25	6,28
72	55	60	90	5,13	5,25	6,28
<b>Ether de pétrole</b>						
24	43,47	69,56	82,60	4,83	5,52	5,94
48	47,61	71,43	85,71	4,94	5,56	6,06
72	55,00	80,00	90,00	5,13	5,84	6,28
<b>Butanolique</b>						
24	68,00	100	100	5,47	8,09	8,09
48	76	100	100	5,71	8,09	8,09
72	84	100	100	5,99	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	11,77	58,81	88,23	3,79	5,23	6,19
48	11,77	64,71	100	3,79	5,38	8,09
72	11,77	64,71	100	3,79	5,38	8,09
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	76,92	88,46	92,30	5,74	6,19	6,42
48	76,92	96,15	100	5,74	6,76	8,09
72	80	100	100	5,84	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	84,61	100	100	6,01	8,09	8,09
48	88,46	100	100	6,19	8,09	8,09
72	91,66	100	100	6,36	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	75	100	100	5,67	8,09	8,09
48	76	100	100	5,71	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	10,71	28,57	39,29	3,74	4,43	4,73
48	11,11	29,62	40,73	3,77	4,46	4,77
72	11,11	29,62	40,73	3,77	4,46	4,77
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	57,14	/	/	5,18
48	/	/	70,37	/	/	5,53
72	/	/	81,48	/	/	5,89
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	60,71	/	/	5,27
48	/	/	74,06	/	/	5,64
72	/	/	92,59	/	/	6,43

a.L'extrait hexanique : aux concentrations 2,5 et 5 mg/mL, les taux de mortalité des (L3), après 24, 48 et 72 h d'exposition sont faibles à assez moyens, ils varient entre 48,08 et 60 %.

Par contre, à la concentration de 10 mg/mL, les taux de mortalité dépassent les 85,71 % pour atteindre un maximum de 90 % après 72 h de traitement.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité sont faibles à moyens, ils varient entre 43,47 et 55 % après 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement. Par contre pour les autres concentrations ; 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont élevés. Ils sont compris entre 69,56 et 90 % pour toutes les durées d'exposition.

c.L'extrait butanolique : cet extrait agit négativement sur longévité des (L3), les taux de mortalité sont de 68 - 76 et 84 % pour 24, 48 et 72 h respectivement à la concentration de 2,5 mg/mL.

Aux concentrations de 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont de 100 % pour toutes les durées d'exposition.

d.L'extrait chloroformique : des taux de mortalité faibles sont enregistrés à la concentration 2,5 mg/m, soit ; 11,7 %. Ils sont moyens à bons à la concentration 5 mg/mL, entre 58,81 et 64,71 % et très bon à la concentration 10 mg/mL et ce pour toutes les durées d'exposition de 88,23 à 100 %.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : les taux de mortalité sont très forts pour les trois temps d'exposition aux trois concentrations testées ; 2,5 - 5 et 10 mg/mL. Ils varient de 76,92 et 100 %.

f.L'extrait méthanolique : pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées, cet extrait s'avère très efficace avec des taux de mortalité allant de 84,61 à 100 %.

g.L'extrait éthanolique : une très bonne activité insecticide est remarquée sur les (L3), avec des taux de mortalité qui oscillent entre 75 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i. L'extrait aqueux : cet extrait s'avère inefficace vis-à-vis des (L3), les taux de mortalité ne dépassent pas les 50 % aux différentes concentrations testées, et aux différents temps d'exposition.

j. Les traitements chimiques : les insecticides chimiques ont une activité moyenne après 24 h d'exposition. Par contre cette activité devient importante après 48 h d'exposition, mais ils sont moins efficaces que les extraits alcooliques.

A la lumière de ces résultats, on constate que les extraits alcooliques sont efficaces sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*. Tandis que l'extrait chloroformique et l'extrait aqueux sont inefficaces à la faible concentration seulement.

#### 6.8.5.1. Effets des traitements par les E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

On a calculé les  $DL_{50}$  des différents E.M.Ls de *T. numidicus* sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta* à travers les droites de régression illustrées dans la figure 6.59.

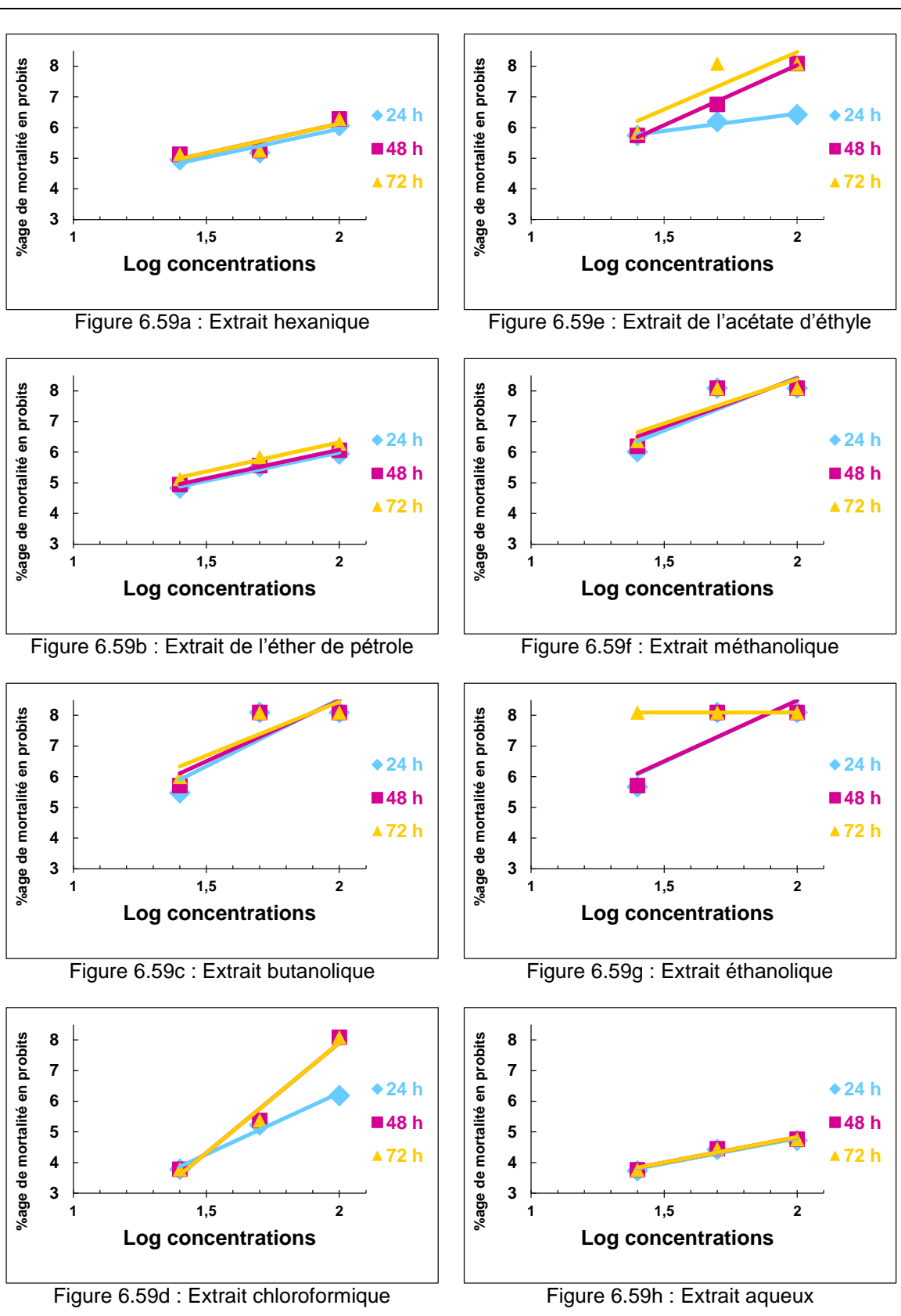


Figure 6.59 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *T. numidicus* (L3 *T. absoluta*)

Les DL<sub>50</sub> ont été calculées à partir des droites de régression présentées dans la figure 6.59. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.49.

Tableau 6.49 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Extraits (L3-T.N)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
		24	48	72
Hexanique		3,61	2,58	2,58
Ether de pétrole		2,93	2,64	2,04
Butanolique		1,56	1,47	1,41
Chloroformique		4,81	3,94	3,94
Acétate d'éthyle		2,55	1,67	1,19
Méthanolique		1,02	0,84	0,67
Ethanolique		1,36	1,32	1,28
Aqueux		13,31	12,61	12,61

Les DL<sub>50</sub> obtenues avec les extraits alcooliques sont moins élevées que la faible concentration (2,5 mg/mL).

Après avoir exposé les (L3) de *T. absoluta* pendant 72 h aux différents traitements végétaux de *T. numidicus*, toutes les concentrations obtenues sont inférieures à la concentration minimale à l'exception des extraits hexanique, chloroformique et aqueux.

#### 6.8.5.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

La figure 6.60 montre l'influence de la durée d'exposition des (L3) aux différents E.M.Ls.



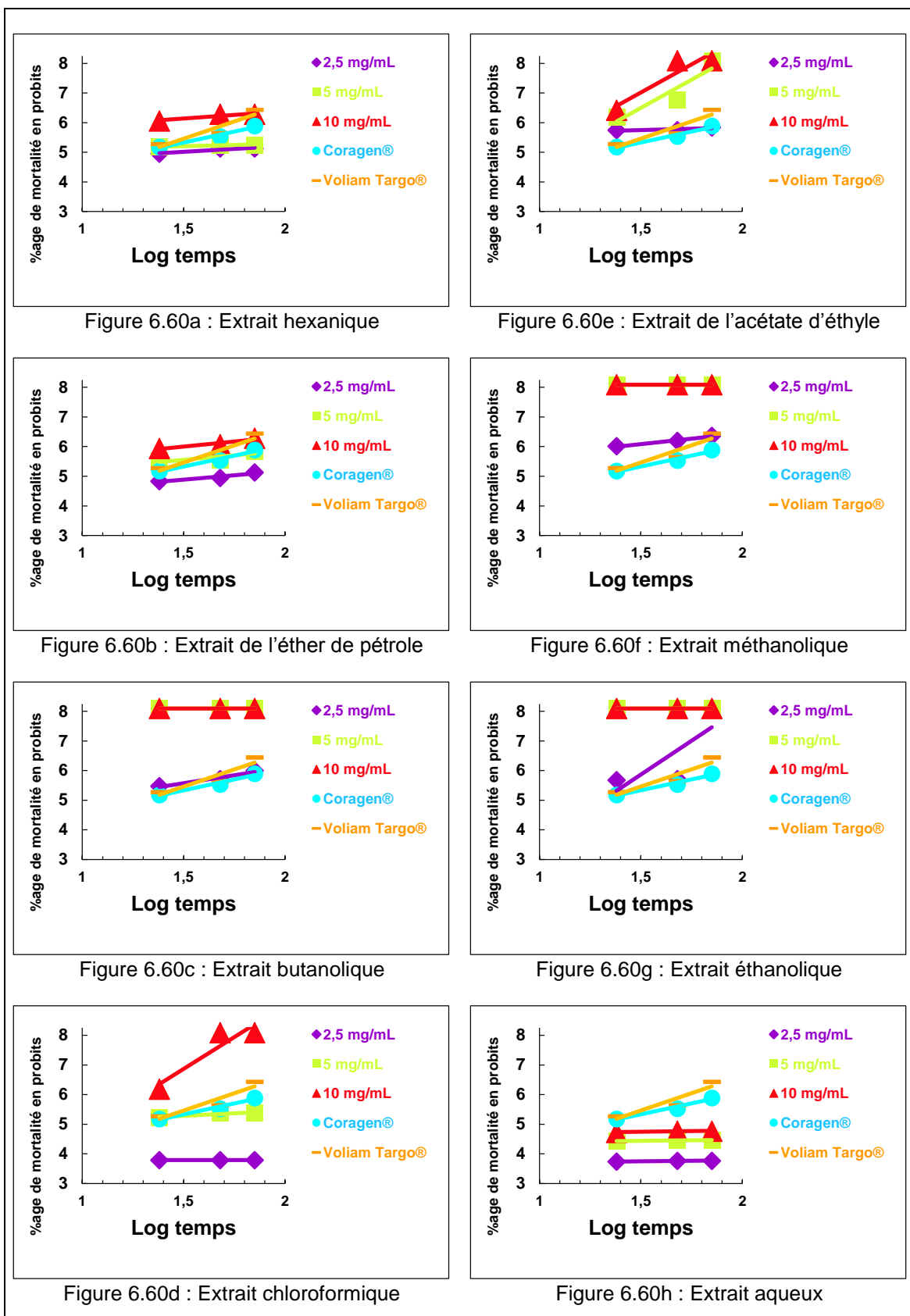


Figure 6.60 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.L. de *T. numidicus* (L3 *T. absoluta*)

Les TL<sub>50</sub> ont été calculés à partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.60. Les valeurs des TL<sub>50</sub> obtenues sont mentionnées dans le tableau 6.50.

Tableau 6.50 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L3-T.N)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	29 h et 28 min	29 h et 50 min	16 h et 46 min
Ether de pétrole	49 h et 11 min	17 h et 45 min	11 h et 35 min
Butanolique	21 h et 38 min	8 h et 37 min	11 h et 39 min
Chloroformique	/	35 h et 52 min	11 h et 39 min
Acétate d'éthyle	17 h et 47 min	12 h et 47 min	9 h et 17 min
Méthanolique	12 h et 40 min	8 h et 37 min	4 h et 17 min
Ethanolique	20 h et 27 min	8 h et 37 min	4 h et 17 min
Aqueux	/	/	22675 h et 26 min
Coragen®	/	/	18 h et 49 min
Voliam Targo®	/	/	20 h et 02 min

D'après le tableau 6.50, les TL<sub>50</sub> les plus faibles correspondent à la plus forte concentration testée (10 mg/mL) et aux extraits alcooliques aussi.

Les TL<sub>50</sub> obtenus avec le Coragen® et le Voliam Targo® sont plus élevés que ceux enregistrés avec les extraits alcooliques à la forte concentration de 10 mg/mL.

#### 6.8.6. Activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* à l'égard des (L3) de *T. absoluta*

L'activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* sur les (L3) de *T. absoluta* est représentée dans le tableau 6.51.

Tableau 6.51 : Effets de l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L3-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (µL/L)					Doses (µL/L)				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	23,98	32,01	40,05	64,03	79,98	4,29	4,53	4,75	5,36	5,84
48	30,37	39,11	43,41	65,19	82,53	4,49	4,72	4,83	5,4	5,94
72	34,93	49,93	64,92	79,91	94,9	4,61	5	5,39	5,84	6,63
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	57,14	/	/	/	/	5,18
48	/	/	/	/	70,37	/	/	/	/	5,53
72	/	/	/	/	81,48	/	/	/	/	5,89
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	60,71	/	/	/	/	5,27
48	/	/	/	/	74,06	/	/	/	/	5,64
72	/	/	/	/	92,59	/	/	/	/	6,43

Il ressort de ce tableau, que la mortalité larvaire est importante chez les (L3), à partir de la dose 200 µL/L après 72 h d'exposition (64,92 %).

Tandis qu'aux doses 400 et 800 µL/L, les taux de mortalité dépassent 64,03 % après 24 h seulement pour atteindre un maximum de 94,9 après 72 h d'exposition.

Une toxicité supérieure à 50 % a été enregistrée avec tous les temps d'exposition pour les deux insecticides chimiques testés.

#### 6.8.6.1. Effets des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

L'action insecticide des différentes doses sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta* a été interprétée par les DL<sub>50</sub>, qui sont représentées dans la figure 6.61.

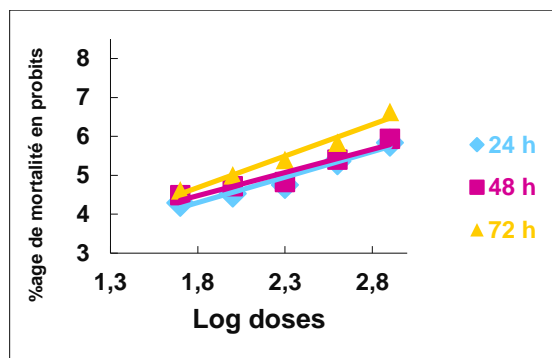


Figure 6.61 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *T. numidicus* (L3 *T. absoluta*)

Les  $DL_{50}$  de l'H.E de *T. numidicus* calculées à partir des droites de régression présentées dans la figure 6.61 sont renseignées dans le tableau 6.52.

Tableau 6.52 : Résultats des  $DL_{50}$  de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Extrait (L3-T.N)	$DL_{50}$ ( $\mu\text{L/L}$ )		
	24	48	72
H.E	216,33	172,67	99,43

Le tableau 6.52, montre que les  $DL_{50}$  diminuent avec l'augmentation de la durée d'exposition, la faible concentration correspond à 99,43  $\mu\text{L/L}$  après 72 h d'exposition au traitement.

#### 6.8.6.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L3) de *T. absoluta*

Les  $TL_{50}$  de l'H.E de *T. numidicus* ont été interprétés par des droites de régression qui sont illustrées dans la figure 6.62.

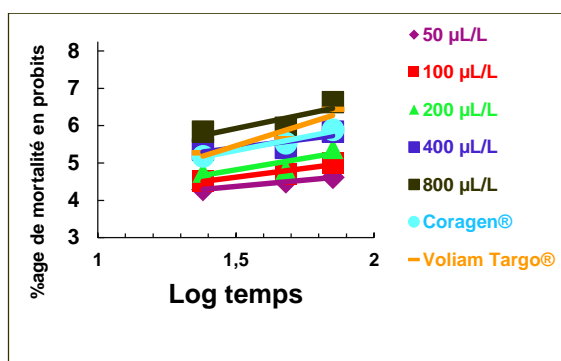


Figure 6.62 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* (L3 *T. absoluta*)

Les droites de régression du logarithme du temps en fonction des probits nous ont permis de déterminer les TL<sub>50</sub> de l'H.E de *T. numidicus*. Ils sont renseignés dans le tableau 6.53.

Tableau 6.53 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L3) de *T. absoluta* (T.N, H.E)

Doses (µL/L)	TL <sub>50</sub>				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
Extrait (L3-T.N)					
H.E	268 h et 16 min	79 h et 22 min	44 h et 09 min	11 h et 25 min	07 h et 49 min

D'après le tableau 6.53, le TL<sub>50</sub> le plus court est obtenu avec la plus forte dose, il est de l'ordre 07 h et 49 min.

#### 6.8.7. Activité insecticide des E.M.Ls de *T. numidicus* à l'égard des (L4) de *T. absoluta*

Les résultats du traitement des (L4) de *T. absoluta* par les différents E.M.Ls de *T. numidicus* sont présentés dans le tableau 6.54.

Tableau 6.54 : Effets des E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (L4-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)			Probits		
	Concentrations (mg/mL)			Concentrations (mg/mL)		
	C1 2,5	C2 5	C3 10	C1 2,5	C2 5	C3 10
<b>Hexanique</b>						
24	34,78	47,83	73,91	4,61	4,95	5,64
48	36,36	50	77,27	4,65	5	5,75
72	36,36	50	77,27	4,65	5	5,75
<b>Ether de pétrole</b>						
24	41,66	66,66	70,82	4,79	5,43	5,54
48	45,82	70,82	79,16	4,89	5,54	5,81
72	45,82	75	83,32	4,89	5,67	5,96
<b>Butanolique</b>						
24	66,66	100	100	5,43	8,09	8,09
48	77,77	100	100	5,76	8,09	8,09
72	81,48	100	100	5,89	8,09	8,09
<b>Chloroformique</b>						
24	8,70	56,51	86,96	3,61	5,16	6,13
48	9,09	59,1	95,44	3,66	5,24	6,65
72	13,63	63,63	95,44	3,89	5,35	6,65
<b>Acétate d'éthyle</b>						
24	75	82,14	89,29	5,67	5,92	6,24
48	77,77	100	100	5,76	8,09	8,09
72	80	100	100	5,84	8,09	8,09
<b>Méthanolique</b>						
24	71,43	100	100	5,57	8,09	8,09
48	85,71	100	100	6,06	8,09	8,09
72	88,88	100	100	6,22	8,09	8,09
<b>Ethanolique</b>						
24	72,41	96,45	100	5,59	6,77	8,09
48	75	100	100	5,67	8,09	8,09
72	100	100	100	8,09	8,09	8,09
<b>Aqueux</b>						
24	3,33	26,66	33,33	3,13	4,38	4,57
48	3,58	28,57	35,72	3,14	4,43	4,63
72	3,58	28,57	35,72	3,14	4,43	4,63
<b>Coragen®</b>						
24	/	/	53,33	/	/	5,09
48	/	/	72,41	/	/	5,59
72	/	/	82,75	/	/	5,95
<b>Voliam Targo®</b>						
24	/	/	56,66	/	/	5,17
48	/	/	82,75	/	/	5,95
72	/	/	93,10	/	/	6,49

Les résultats représentés dans le tableau 6.54, montrent que les (L4) de *T. absoluta* agissent différemment à l'égard des différentes concentrations des E.M.Ls de *T. numidicus*. Ils sont interprétés comme suit :

a.L'extrait hexanique : les taux de mortalité des (L4) à la concentration 2,5 mg/mL sont faibles, ils ne dépassent pas les 36,36 % pour toutes les durées de traitement.

Par contre, les taux de mortalité avoisinent les 50 % à la concentration de 5 mg/mL après 24, 48 et 72 h.

Tandis qu'à la concentration 10 mg/mL, ces taux sont forts, ils dépassent 73,91 % pour atteindre un maximum de 77,27 % pour les trois durées d'exposition.

b.L'extrait de l'éther de pétrole : les taux de mortalité sont faibles à la concentration de 2,5 mg/mL. Ils ne dépassant pas 45,82 % pour les trois durées d'exposition.

Les taux de mortalité sont élevés concernant les concentrations 5 et 10 mg/mL. Ils oscillent entre 66,66 et 83,32 % pour toutes les durées d'exposition.

c.L'extrait butanolique : une activité insecticide importante est enregistrée avec cet extrait. Après 24 h seulement et à la concentration 2,5 mg/mL, le taux de mortalité des (L4) est de 66,66 %, pour atteindre 81,48 % après 72 h d'exposition.

Aux concentrations 5 et 10 mg/mL, les taux de mortalité sont maximums avec 100 % pour toutes les durées d'exposition aussi.

d.L'extrait chloroformique : à la faible concentration de 2,5 mg/mL, les taux de mortalité sont très faibles pour les trois durée d'exposition.

Tandis qu'ils sont moyens à la concentration de 5 mg/mL, ils varient entre 56,51 et 63,63 %, et très bons à la concentration de 10 mg/mL pour toutes les durées d'exposition.

e.L'extrait de l'acétate d'éthyle : les taux de mortalité sont très élevés pour les trois temps d'exposition et pour les trois concentrations aussi. Ils sont entre 75 et 100 %.

f.L'extrait méthanolique : pour les trois durées d'exposition et pour les trois concentrations testées, les taux de mortalité sont supérieurs à 71,43 %.

g.L'extrait éthanolique : les taux de mortalité varient entre 72,41 et 100 % pour les trois concentrations testées et les trois durées d'exposition aussi.

i.L'extrait aqueux : des taux de mortalité très faibles sont enregistrés avec cet extrait, aux différentes concentrations testées, et aux différents temps d'exposition.

j.Les traitements chimiques : les insecticides chimiques ont une activité moyenne après 24 h d'exposition. Par contre, cette activité devient importante après 48 d'exposition seulement, car elle dépasse les 72 %.

On a remarqué que les taux de mortalité enregistrés sont très élevés avec les extraits alcooliques. Ils sont toujours plus efficaces que les traitements chimiques même à la faible concentration.

L'extrait chloroformique est inefficace à la faible concentration. Tandis que l'extrait aqueux s'avère inefficaces à toutes les concentrations et à toutes les durées d'exposition.

D'après ces résultats on constate que les larves jeunes sont plus sensibles que les larves âgées, Donc le stade de développement est en relation avec la nature du traitement, la dose et la durée d'exposition.

#### 6.8.7.1. Effets des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

A partir des droites de régression qui qui sont représentées dans la figure 6.63, on a évalué les DL<sub>50</sub> des différents E.M.Ls de *T. numidicus* de la mortalité des (L4) de *T. absoluta*.



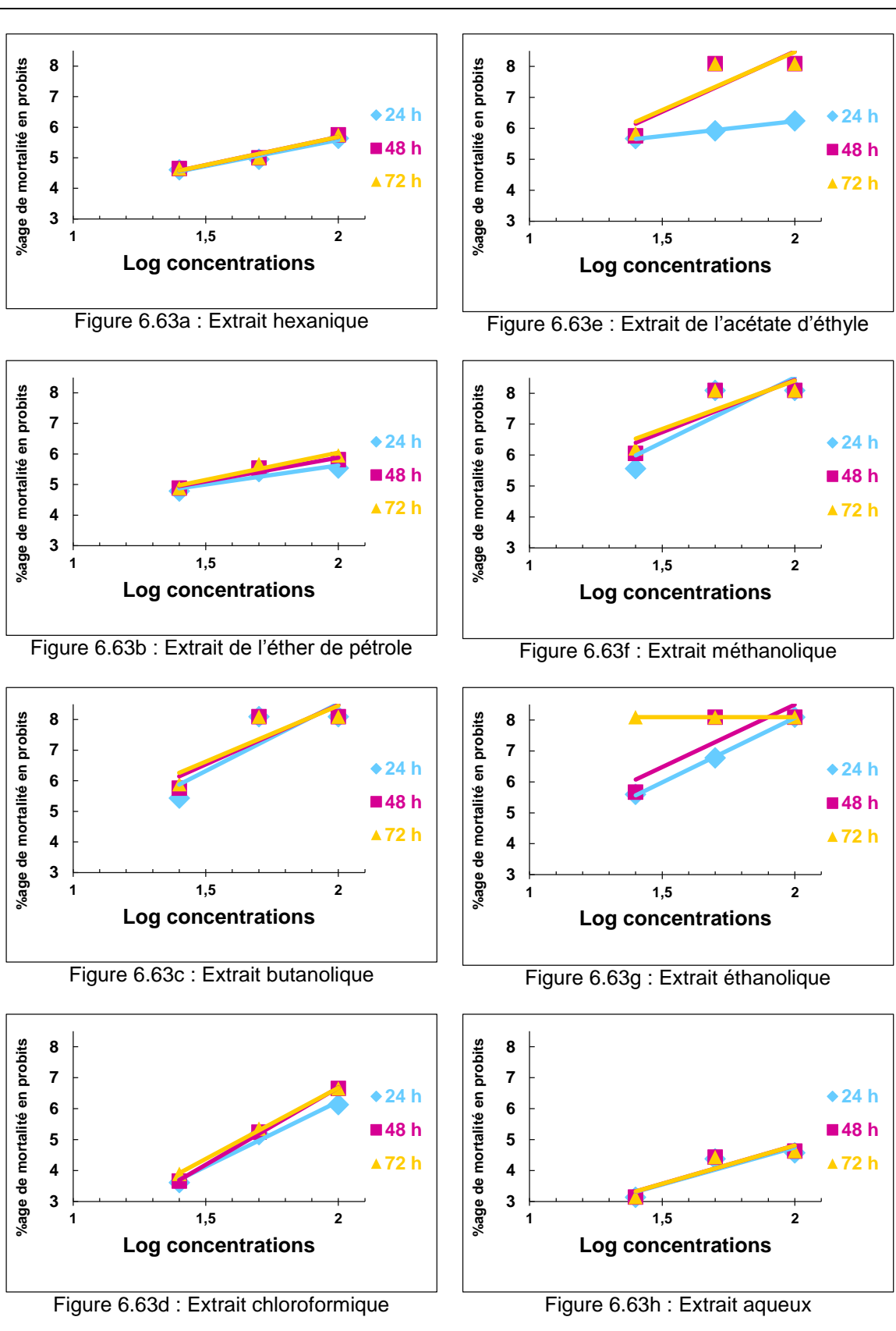


Figure 6.63 : Droites de régression des probits à différentes concentrations des E.M.Ls de *T. numidicus* (L4 *T. absoluta*)

Les DL<sub>50</sub> ont été calculées à partir des droites de régression représentées dans la figure 6.63, les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 6.55.

Tableau 6.55 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Extraits (L4-T.N)	DL <sub>50</sub> (mg/mL)		
	24	48	72
Hexanique	4,59	4,24	4,24
Ether de pétrole	3,14	2,7	2,61
Butanolique	1,60	1,27	1,14
Chloroformique	4,32	4,6	5,1
Acétate d'éthyle	2,78	1,27	1,19
Méthanolique	1,46	0,97	0,81
Ethanolique	1,88	1,36	/
Aqueux	12,75	11,92	11,92

Les DL<sub>50</sub> obtenues après 24, 48 et 72 h d'exposition montrent qu'elles sont inférieures à la faible concentration de 2,5 mg/mL pour les extraits alcooliques.

Par ailleurs, les DL<sub>50</sub> des autres extraits sont inférieures à la moyenne concentration de 5 mg/mL excepté l'extrait aqueux après 24 et 48 h.

Pour tous les traitements, les valeurs des DL<sub>50</sub> sont inversement proportionnelles aux temps d'exposition. En effet, plus on augmente la concentration plus le temps est plus grand.

#### 6.8.7.2. Effets des durées des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* à différentes concentrations sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

L'efficacité de la durée d'exposition des (L4) aux différents E.M.Ls a été également estimée par les TL<sub>50</sub> qui sont représentés par les droites de régression indiquées dans la figure 6.64.

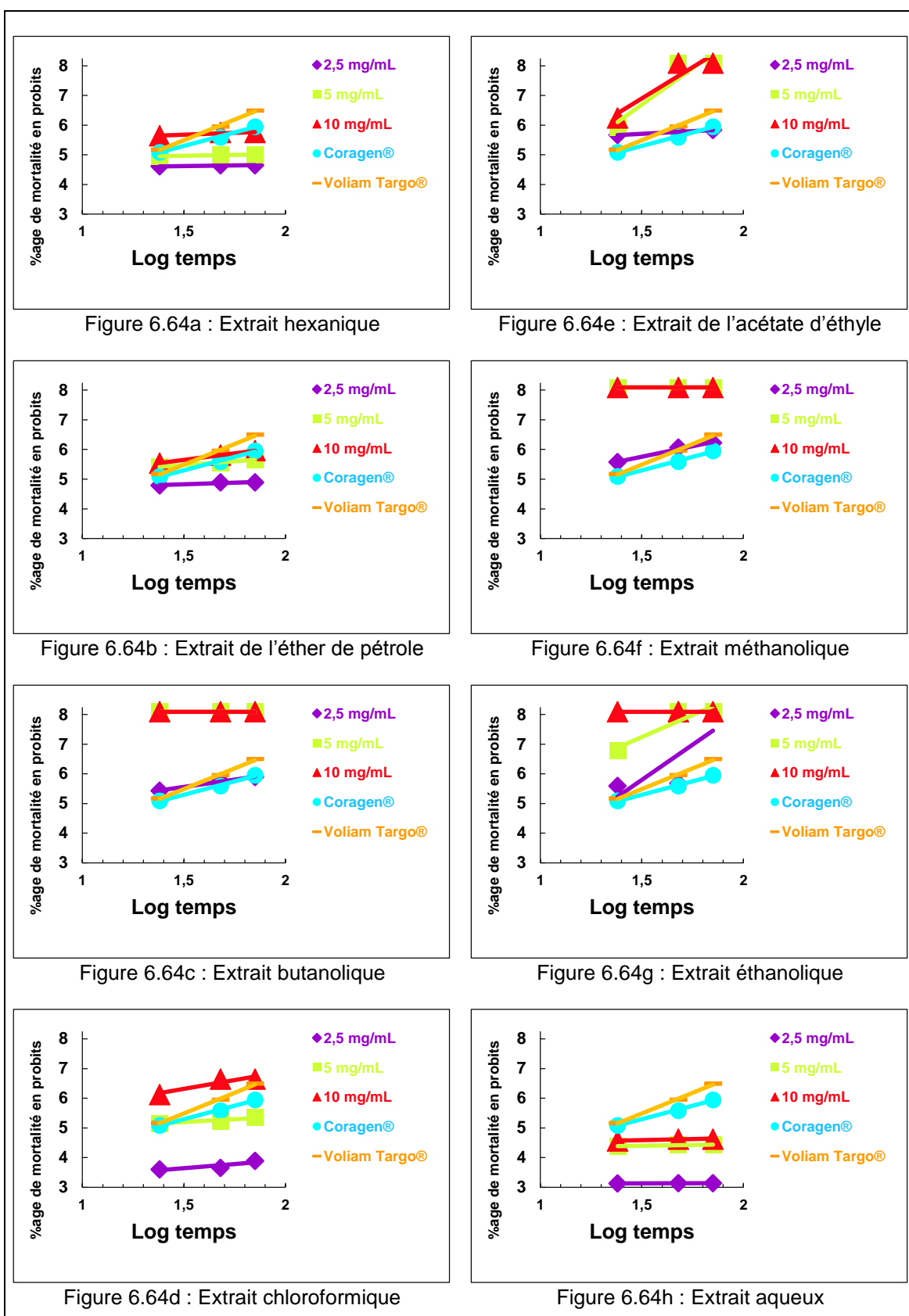


Figure 6.64 : Droite de régression des probits à différentes durées des traitements par les E.M.Ls de *T. numidicus* (L4 *T. absoluta*)

A partir des droites de régression illustrées dans la figure 6.64, on a calculé les TL<sub>50</sub>, les valeurs obtenues sont citées dans le tableau 6.56.

Tableau 6.56 : Résultats des TL<sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (E.M.Ls, T.N)

Concentrations (mg/mL)  Extraits (L4-T.N)	TL <sub>50</sub>		
	C1 2,5	C2 5	C3 10
Hexanique	/	62 h et 30 min	38 h et 35 min
Ether de pétrole	190 h	21 h et 53 min	12 h et 56 min
Butanolique	22 h et 57 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Chloroformique	/	37 h et 20 min	17 h et 5 min
Acétate d'éthyle	17 h et 58 min	14 h et 18 min	11 h et 08 min
Méthanolique	12 h et 46 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Ethanolique	21 h et 41 min	8 h et 37 min	8 h et 37 min
Aqueux	/	/	/
Coragen®	/	/	21 h et 43 min
Voliam Targo®	/	/	21 h et 07 min

Il ressort de l'interprétation du tableau 6.56, que les TL<sub>50</sub> les plus faibles sont toujours obtenus avec la plus forte concentration testée (10 mg/mL) et avec les extraits alcooliques aussi. Les valeurs des TL<sub>50</sub> du Coragen® et du Voliam Targo® sont plus élevées que celles enregistrées avec les extraits alcooliques à la forte concentration de 10 mg/mL.

#### 6.8.8. Activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* à l'égard des (L4) de *T. absoluta*

Les résultats de l'activité insecticide de l'H.E de *T. numidicus* sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta* sont étalés dans le tableau 6.57.

Tableau 6.57 : Effets de l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Extraits testés et temps d'exposition (h) (L4-T.N)	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses ( $\mu\text{L/L}$ )					Doses ( $\mu\text{L/L}$ )				
	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800	D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
<b>H.E</b>										
24	23,07	30,8	38,41	53,86	65,47	4,26	4,5	4,7	5,1	5,4
48	29,12	37,5	41,62	66,62	75	4,45	4,68	4,79	5,43	5,67
72	31,88	45,5	63,62	72,75	90,87	4,53	4,88	5,35	5,6	6,33
<b>Coragen®</b>										
24	/	/	/	/	53,33	/	/	/	/	5,09
48	/	/	/	/	72,41	/	/	/	/	5,59
72	/	/	/	/	82,75	/	/	/	/	5,95
<b>Voliam Targo®</b>										
24	/	/	/	/	56,66	/	/	/	/	5,17
48	/	/	/	/	82,75	/	/	/	/	5,95
72	/	/	/	/	93,10	/	/	/	/	6,49

A travers les résultats représentés dans le tableau 6.57, on remarque qu'à la dose de 800  $\mu\text{L/L}$ , le taux de la mortalité larvaire est très fort avec 75 % après 48 h d'exposition. Ce dernier atteint les 90,87 % après 72 h d'exposition.

Par ailleurs à la dose 400  $\mu\text{L/L}$ , après 24 et 48 h, les taux de mortalité sont moyens à bons avec respectivement 53,86 et 66,62 %. Tandis qu'après 72 h d'exposition et pour la même dose, le taux de mortalité augmente pour atteindre 72,75 %.

Par contre les autres doses 200, 100 et 50  $\mu\text{L/L}$ , les taux de mortalité sont considérés faibles pour toutes les durées d'exposition, excepté la dose 200  $\mu\text{L/L}$  après 72 de traitement avec 63,62 %.

Le Coragen® et le Voliam Targo® ont montré une toxicité supérieure à 50 % pour tous les temps d'exposition, mais ils restent moins efficaces que la forte dose de 800  $\mu\text{L/L}$ .

#### 6.8.8.1. Effets des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

L'efficacité des différentes doses sur les (L4) de *T. absoluta* a été traduite par les DL<sub>50</sub> qui sont représentées dans la figure 6.65.

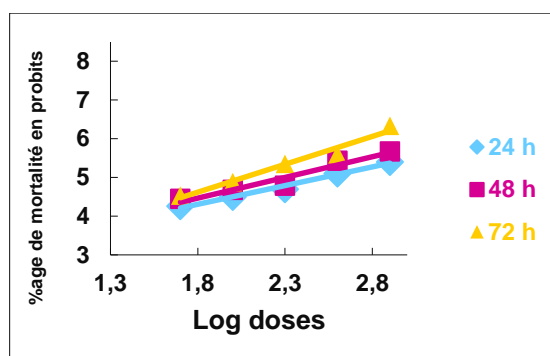


Figure 6.65 : Droites de régression des probits à différentes doses de l'H.E de *T. numidicus* (L4 *T. absoluta*)

La figure 6.65, montre l'évolution de la mortalité des (L4) en fonction des doses. A partir de cette figure on a calculé les DL<sub>50</sub> qui sont renseignées dans le tableau 6.58.

Tableau 6.58 : Résultats des DL<sub>50</sub> de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Extrait (L4-T.N)	Temps (h)	DL <sub>50</sub> (μL/L)		
		24	48	72
H.E		328,6	198,28	116,22

Il ressort de ce tableau, que la DL<sub>50</sub> la plus faible est obtenue après 72 h d'exposition au traitement, elle est de 116,22 μL/L et elle correspond à la faible dose de 100 μL/L.

#### 6.8.8.2. Effets des durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* à différentes doses sur la mortalité des (L4) de *T. absoluta*

Les droites de régressions montrées dans la figure 6.66, nous ont permis d'estimer l'efficacité de la durée du traitement par l'H.E de *T. numidicus* qui a été interprétée par les TL<sub>50</sub>.

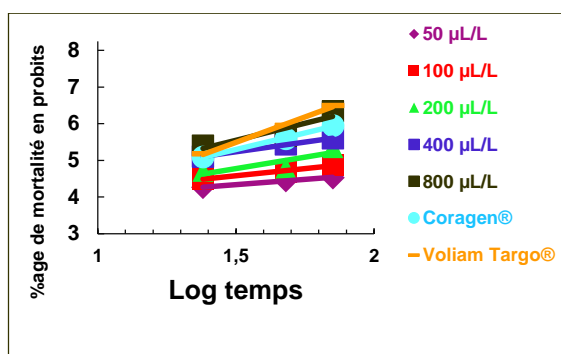


Figure 6.66 : Droites de régression des probits à différentes durées des traitements par l'H.E de *T. numidicus* (L4 *T. absoluta*)

On a déterminé les  $TL_{50}$  de l'H.E de *T. numidicus* à partir des droites de régression du logarithme du temps en fonction des probits. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6.59.

Tableau 6.59 : Résultats des  $TL_{50}$  de la mortalité des (L4) de *T. absoluta* (H.E, T.N)

Extrait (L4-T.N)	Doses ( $\mu\text{L/L}$ )	$TL_{50}$				
		D1 50	D2 100	D3 200	D4 400	D5 800
H.E		443 h et 46 min	109 h et 13 min	47 h et 56 min	19 h et 16 min	16 h et 04 min

Les  $TL_{50}$  diminuent en fonction de l'augmentation des doses, la durée la plus courte est de 16 h et 04 min, elle est enregistrée avec la plus forte dose de 800  $\mu\text{L/L}$ .

L'analyse de ces données montre que les  $DL_{50}$  sont inversement proportionnels aux temps d'exposition. En effet, après 72 h, les doses nécessaires pour provoquer une mortalité de 50 % sont plus faibles que celles de 24 et 48 h. De même, à la dose 800  $\mu\text{L/L}$ , le temps nécessaire pour provoquer la mort de 50 % de la population traitée est plus court.

Les extraits alcooliques et l'extrait de l'acétate d'éthyle sont très efficaces à toutes les doses testées et pendant des durées d'exposition très courtes aussi. Tandis que, les H.Es sont moins efficaces que les extraits alcooliques même à forte dose, mais les  $DL_{50}$  et les  $TL_{50}$  restent toujours faibles. Cependant ces bio-essais restent plus efficaces que les deux insecticides chimiques testées.

6.9. Analyse de la variance de l'action des différents E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* sur les larves de *T. absoluta*

L'analyse de la variance a été basée sur le test de Student-Newman-Keuls à un intervalle de confiance de ( $P \leq 0,05$ ) est représenté dans le tableau 6.60.

Tableau 6.60 : Analyse de la variance de l'activité insecticide des E.M.Ls de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

<b>Facteurs de variation (R<sup>2</sup>= 0,998)</b>	<b>ddl</b>	<b>Moyenne des carrés</b>	<b>P-valeur</b>	<b>Signification (P ≤ 0,05)</b>
<b>Plantes</b>	1,00	1,885	0,819	NS
<b>Extraits</b>	7,00	449,588	0,01	S
<b>Concentrations</b>	9,00	4631,198	0,001	HS
<b>Durées d'exposition</b>	7,00	113,304	0,01	S
<b>Stades larvaires</b>	7,00	155,377	0,01	S
<b>Plantes*Extraits</b>	7,00	1,167	0,01	S
<b>Plantes*Concentrations</b>	7,00	1,383	0,01	S
<b>Plantes*Durées d'exposition</b>	7,00	5,530	0,01	S
<b>Plantes*Stades larvaires</b>	7,00	0,430	0,01	S
<b>Extraits*Concentrations</b>	21,00	105,835	< 0,0001	THS
<b>Extraits*Durées d'exposition</b>	21,00	1,518	< 0,0001	THS
<b>Extraits*Stades larvaires</b>	21,00	17,946	< 0,0001	THS
<b>Concentrations*Durées d'exposition</b>	9,00	3,170	0,001	HS
<b>Concentrations*Stades larvaires</b>	9,00	4,888	0,001	HS
<b>Durées d'exposition* Stades larvaires</b>	9,00	0,878	0,001	HS

Il ressort de ce tableau, que tous les paramètres étudiés à savoir les différents extraits testés, les concentrations, les durées d'exposition ainsi que les quatre stades larvaires, ont une influence sur la mortalité des larves de *T. absoluta*, à l'exception des deux plantes qui agissent d'une manière similaire sur l'ensemble de ces paramètres.

6.10. Analyse de la variance de l'action des H.Es de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* sur les larves de *T. absoluta*

L'analyse des différents résultats de la toxicité des H.Es de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* ont été exprimé statistiquement dans le tableau 6.61 :

L'analyse de la variance a été basée sur le test de Student-Newman-Keuls à un intervalle de confiance de ( $P \leq 0,05$ ).



Tableau 6.61 : Analyse de la variance de l'activité insecticide des H.Es de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Facteurs de variation (R <sup>2</sup> = 0,924)	ddl	Moyenne des carrés	P-valeur	Signification (P ≤ 0,05)
Plantes	1,00	1,326	0,06	NS
Extraits	3,00	24,083	0,001	HS
Doses	5,00	315,876	< 0,0001	THS
Durées d'exposition	2,00	116,485	0,001	HS
Stades larvaires	3,00	63,719	0,001	HS
Plantes*Extraits	2,00	0,743	0,01	S
Plantes*Doses	2,00	1,002	0,01	S
Plantes*Durées d'exposition	1,00	6,012	0,01	S
Plantes*Stade larvaires	3,00	0,330	0,01	S
Extraits*doses	5,00	1,578	0,001	HS
Extraits*Durées d'exposition	2,00	0,563	0,01	S
Extraits*Stade larvaires	3,00	0,559	< 0,01	S
Doses*Durée d'expositions	10,00	0,852	< 0,0001	THS
Doses*Stade larvaires	15,00	3,317	< 0,0001	THS
Durées d'exposition* Stades larvaires	6,00	00,831	0,001	HS

Selon le tableau représenté ci-dessus, on remarque que l'action des deux plantes étudiée sur les doses, les durées d'expositions et les stades larvaires est non significative. En effet les deux plantes exercent la même activité insecticide sur les larves de *T. absoluta*. Par contre, les doses des deux H.Es ainsi que les temps d'exposition agissent d'une manière remarquable sur les différents stades larvaires.

Cette étude a permis de mettre en évidence l'efficacité des molécules bioactives de deux plantes appartenant à deux familles botaniques à savoir ; les E.Vx de obtenus à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* (Apiaceae) et les E.Vx de obtenus à partir des feuilles de *T. numidicus* (Lamiaceae) testés *in vitro* et par contact sur les quatre stades larvaires de *T. absoluta*.

Les différentes doses des H.Es ainsi que les concentrations des E.M.Ls des deux plantes étudiée exercent une activité insecticide plus au moins importante sur les larves de *T. absoluta*

Il ressort de ces résultats que les E.Vx de ces deux plantes agissent d'une manière similaire sur la longévité des larves de *T. absoluta*, à l'exception de quelques variations telles que l'H.E de *T. numidicus* qui a démontré un taux de mortalité plus important que l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*. Ainsi, les DL<sub>50</sub> et les TL<sub>50</sub> sont plus faibles aussi.

Cette action est attribuée à la richesse de ces E.Vx en métabolites secondaires tels que les polyphénols et les terpènes aussi, qui sont légèrement solubles dans les solvants apolaires et très solubles dans les solvants polaires. De ce fait, l'efficacité des extraits alcooliques est expliquée par le degré de solubilité de ces métabolites dans les alcools. Ainsi, on peut émettre l'hypothèse que l'efficacité biocides des extraits butanolique, méthanolique et éthanolique à l'égard des larves de *T. absoluta*. A la faible dose de 2,5 mg/mL, on a enregistré des taux de mortalité larvaire importants avec les extraits alcooliques, qui sont supérieurs que ceux enregistrés avec les insecticides chimique.

En effet, les résultats obtenus au cours de cette étude sont parfaitement en accord avec ceux réalisés par plusieurs auteurs qui ont étudié le potentiel insecticide des E.Vx de plusieurs plantes appartenant à la famille des Apiaceae et à la famille des Lamiaceae. Ils ont précisé aussi que la mortalité croit avec l'augmentation de la concentration et de la durée d'exposition aussi.

Cependant, par manque de travaux sur l'insecte et sur les espèces végétales étudiées, on a comparé nos résultats à ceux cités dans la littérature sur l'activité insecticide des différents extraits végétaux obtenus à partir des plantes appartenant aux genres *Daucus* et *Thymus*.

Conformément à nos résultats, des études faites par TCHOUMBOUGNANG et al., [217], ont prouvé que le *T. vulgaris* est connu pour son activité insecticide contre plusieurs groupes zoologiques comme les moustiques culicidés en raison de leur richesse en métabolites secondaires plus précisément les polyphénols.

Selon SAIDJ et al., [86], les tests de toxicité sur *Rhyzopertha dominica* (F) (Coleoptera: Bostrychidae) ont montré que l'H.E de *T. numidicus* a une activité insecticide remarquable sur cet insecte. En effet, la mortalité de l'insecte augmente avec l'augmentation des concentrations des H.Es utilisées, Cette toxicité est attribuée à la présence d'une forte proportion de linalol et thymol qui ont un pouvoir insecticide remarquable.

Selon BOUGUERRA et al., [218], les activités larvicides de l'H.E de *T. vulgaris* ont été évaluées contre le quatrième stade de *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae), à différentes doses (25, 50, 100, 150 et 200 ppm). Les valeurs de DL<sub>50</sub> obtenues

après 24, 48 et 72 h de traitement sont respectivement de 72,04 - 68,61, 62 - 12 ppm, et les valeurs DL<sub>90</sub> sont respectivement de 207,01 - 190,54 et 169,82. Cette importante activité est due à la dominance des monoterpènes soit 98,48 % de la composition totale de l'H.E qui sont représentés par 82,88 % de linalol.

OULEBSIR et *al.*, [219], ont enregistré une mortalité de 65,4 % à la dose de 8 µL/mL après 96 h de traitement des pucerons verts du pécher, *Myzus persicae* ; (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), par l'H.E de *T. vulgaris*.

Selon SHAALAN et *al.*, [220], les extraits éthanolique, hexanique, méthanolique, et de l'acétone de *D. carota* à différentes concentrations ont une bonne activité insecticide à l'égard de *Culex annulirostris* Skuse, 1889 (Diptera, Culicidae), avec des DL<sub>50</sub> faibles à moyennes qui sont respectivement de l'ordre de 36,59 - 77,20 - 236 et 241,90 mg/L.

De même, PARK et *al.*, [221], ont testés l'H.E de *D. carota* contre *Culex pipiens pallens* L. (Diptera, Culicidae), cette H.E a montré une activité larvicide de 100 %, et une DL<sub>50</sub> de 3,98 mg/L. L'importante activité larvicide est en relation directe avec la composition chimique de l'H.E qui est riche en β-eudesmol, en élémol, en patchoulol et en carotol (terpènes).

Les travaux d'EL IDRISSEI et *al.*, [222], ont précisé que l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* provoque une réduction très significative de la survie des larves blanches de *Melolontha melolontha* L. (Coloeotera, Scarabaeidae), avec une DL<sub>50</sub> de 0,56 %.

Selon EL HOURRI et *al.*, [223], la prédominance de l'α-pinène avec 22,25 % et le sabinène avec 12,46 % (monoterpènes), ainsi que le β-Asarone avec 15,13 %, dans l'H.E des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* explique la grande sensibilité des adultes de *Bruchus lentis* à l'égard de cette H.E. En effet, après sept jours de traitement, la DL<sub>50</sub> enregistrée est de 16,88 µL/L

En effet, les résultats du présent travail concordent avec ceux de MORENO et *al.*, [224]. Ces derniers ont montré que les extraits hexanique et éthanolique obtenus à partir des parties aériennes d'*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen (1985) (Asteraceae) à une concentration 10 µg/mg ont causés une mortalité de 88,3 à 100 % des (L2) de *T. absoluta* après 6 h d'exposition seulement, avec une DL<sub>50</sub> faible

de 0,13 µg/mg pour l'extrait hexanique. La forte activité insecticide de l'extrait hexanique est attribuée à l'importante quantité d'alkamides (amides) que contient cet extrait.

Ainsi, ALLAL et *al.*, [225], ont montré des effets toxiques moyens des extraits aqueux obtenus à partir des parties aériennes et racinaires d'*Inula viscosa* (L.) W. Greuter (Asteraceae), de *Salvia officinalis* (L.) (Lamiaceae) et d'*Urtica urens* (L.) (Urtiacaceae) à concentrations croissantes dès le deuxième jour d'application sur les larves de *T. absoluta*. Pour ces mêmes auteurs, les DL<sub>50</sub> obtenues avec ces extraits diminuent en augmentant le temps d'exposition.

Cependant NILAHYANE et *al.*, [226], ont montré qu'aux concentrations de 46667 et 77500 mg/L, les extraits méthanoliques des feuilles de *T. vulgaris* et des graines de *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) ont présenté des taux de mortalité larvaire de *T. absoluta* élevés de 95 et 58 % respectivement avec une DL<sub>90</sub> de 89383 mg/L.

Selon AIT TAADAOUIT et *al.*, [227], les extraits éthanolique et méthanolique de *T. vulgaris* ont montré des taux élevés de mortalité des larves de *T. absoluta* supérieurs à 90 % après 72 h d'exposition, avec respectivement des DL<sub>90</sub> de 89,384 et de 156,023 mg/L, suivi de *R. communis*, de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) et d'*Urtica dioïca* L. (Urtiacaceae) qui ont enregistré des taux de mortalité supérieurs à 50 %.

D'après ZACCARDELLI et *al.*, [228], les H.Es de *T. vulgaris*, de *R. officinalis* et d'*O. vulagre* ainsi que les glucosynolates sont capables de contrôler les insectes vecteurs de virus, tels que les pucerons, et les lépidoptères (*T. absoluta*). En effet, les glucosynolates et toutes les H.Es testées sont les plus actives contre ce ravageur comparés au contrôle non traité et aux traitements avec des pesticides chimiques synthétiques.

Selon les mêmes auteurs, ces H.Es ont une bonne action insecticide à l'égard des pucerons et des lépidoptères, tout en agissant sur le système nerveux de ce ravageur.

Une bonne activité insecticide de l'H.E de *T. capitatus* à la dose de 0,2 µL/mL a été exercée sur les différents stades larvaires de *T. absoluta*. Cette H.E a causé une mortalité supérieure à 80 % pour les (L2, L3 et L4) et 100 % de mortalité pour les (L1) après 1,5 h seulement d'exposition. La bonne action insecticide est due principalement à la présence du carvacrol pur et de l' $\alpha$ -pinène en quantités majoritaires dans l'H.E testée [229].

Ces mêmes auteurs ont indiqué que l'hydrolat de cette plante est aussi efficace, avec des taux de mortalité supérieurs à 40 % à la dose de 500 µL/mL et supérieurs à 20 % à la dose de 100 µL/mL. Mais c'est toujours les (L4) qui se montrent les plus résistantes que les autres larves (L1, L2 et L3).

Pour GHANIM et ABDEL GHANI [230], les extraits aqueux de *Melia azedarach* L. (Meliaceae), du *Pelargonium zonale* (L.) 1789 (Geraniaceae), d'*Allium cepa* L. (Liliaceae), d'*Allium sativum* L. et d'*O. basilicum*, testés *in vitro* se sont montrés efficaces à l'égard des (L2) de *T. absoluta*. Le *Melia azedarach* a montré la plus forte activité larvicide contre ce même ravageur. Tandis que les extraits de *P. zonale* et l'insecticide chimique Coragen® sont moins efficaces que l'extrait aqueux de *M. azedarach*.

BERIMA et OSMAN [231], ont étudié l'évaluation des activités biocides des extraits organiques de l'hexane et de l'éthanol des graines de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae), et des Tiges de *Solenostemma argel* Del (Hayne) (Apocynaceae) et le malathion (insecticide chimique) sur la mortalité et la fécondité de *T. absoluta*.

Cette étude a montré que les extraits éthanoliques des tiges de *S. argel* causent une mortalité supérieure à 50 % à la dose de 10 % après 48 h, et une mortalité de 50 % aussi à la dose de 20 % après 24 h de traitement seulement pour atteindre un maximum de 60,3 %, avec une DL<sub>50</sub> de 6,860. Tandis que les extraits hexaniques causent une mortalité faible à moyenne représentée par un maximum de 63,3 % à la forte dose (20 %) et après 72 h de traitement et une DL<sub>50</sub> de 13,571 %.

Parallèlement aux populations de *T absoluta* traitées par l'extrait éthanolique des graines de *J. curcas*, les taux de mortalité sont relativement plus forts. On note un taux de mortalité supérieur à 50 % à la dose de 10 % après 24 h seulement et

un taux de 66,7 % à la plus faible dose de 5 % après 48 h de traitement. Des taux de mortalité très forts sont enregistrés avec les doses 15 et 20 %. Ils varient entre 80 et 90 %.

De même l'extrait hexanique provoque une mortalité supérieure à 50 % pour toutes les doses testées et toutes les durées d'exposition aussi, avec des DL<sub>50</sub> de 2,493 et 3,139 % respectivement. Les résultats obtenus ont montré que toutes les doses testées révèlent un pourcentage de mortalité significativement plus élevé que celui du témoin. Ces résultats sont en accord avec nos résultats qui montrent la plus grande efficacité des extraits alcooliques par rapport aux extraits hexaniques.

En effet, le malathion cause une mortalité importante de 80 %, mais plus faible que celle des extraits éthanolique et hexanique des graines de *J. curcas*.

En revanche, SALAMA et SHEHATA [232], ont enregistré une très forte réduction de la densité des populations de *T. absoluta* traitées par les extraits éthanoliques de l'ail, soit 76,6 % de mortalité à la dose de 2000 ppm et 63,3 % mortalité à la dose de 1000 ppm après 6 jours de traitement.

Notons que d'après BRITO et *al.*, [233], les extraits éthanoliques des feuilles de *Piper amalago* L. var. *moyen* (Piperaceae), à la concentration de 2000 mg/L ont une très bonne activité insecticide contre les larves de *T. absoluta* avec 67 % de mortalité et une DL<sub>50</sub> très faible de 1,008 mg/L.

Récemment BENCHOUIKH et *al.*, [234], ont précisé qu'aux concentrations de 0,054 µL/cm<sup>2</sup> de l'H.E de *C. zeyanicum*, une mortalité de 100 % des larves de *T. absoluta* a été enregistrée après quatre heures d'exposition seulement. De plus, après ce même temps d'exposition au traitement, la DL<sub>50</sub> est de 0,023 µL/cm<sup>2</sup>.

D'après ces mêmes auteurs, une concentration de 0,0785 µL/cm<sup>2</sup> est capable d'exercer une répulsion de 96,25 % des larves. Alors que la concentration de 0,0098 µL/cm<sup>2</sup> induit la répulsion de 52,50 % des larves de *T. absoluta*. Ainsi la dominance de cinnamaldehyde dans la composition chimique de l'H.E de cette espèce est à l'origine de cette remarquable activité.

Les tests de mortalité réalisés par BENCHOUIKH et *al.*, [235], sur *T. absoluta* ont montré que l'H.E des graines *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) possède des

propriétés larvicides remarquables. Après quatre heures d'exposition seulement, cette huile a induit 100 % de mortalité des larves à la concentration de 0,203  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ . La  $\text{DL}_{50}$  obtenue est de 0,105  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ . La présence des monoterpènes comme composés majoritaires confère à cette H.E son important potentiel insecticide.

Cependant, BOUALEM et *al.*, [236], ont testés les extraits hydro-méthanolique et hydro-éthanoliques de *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) et *R. communis* tout en adoptant la méthode de toxicité par contact direct ou par pulvérisation sur les larves de *T. absoluta*. Ces auteurs ont montré qu'il existe une différence entre la toxicité des extraits hydro-méthanoliques et hydro-éthanoliques au sein de la même plante.

En effet, les extraits hydro-éthanoliques et hydro-méthanoliques ont présenté une faible toxicité de 30 % et 40 % à la forte concentration. Tandis que les extraits synergiques ont provoqués un taux de mortalité remarquable qui a dépassé 90 % après 24 h d'exposition au traitement.

Les valeurs des  $\text{DL}_{50}$  obtenues sont supérieures à 50 % pour les extraits hydro-éthanoliques et hydro-méthanoliques aussi. Cependant, les valeurs des  $\text{DL}_{50}$  sont relativement faibles pour l'extrait synergique (19 %).

Ces mêmes auteurs ont montré que les larves (L2 et L1) sont les plus sensibles à tous les extraits utilisés, tandis que les (L3 et L4) sont les plus résistantes, à l'exception de l'extrait synergique. Ces mêmes auteurs ont précisé que la grande teneur en polyphénols est responsable de la biotoxicité des différents extraits testés à l'égard de *T. absoluta*.

Selon DEHLIZ et *al.*, [237], l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. et Reut (Euphorbiaceae) testé par contact sur les larves de *T. absoluta* à la concentration de 100 %, a donné un taux de mortalité larvaire de  $20 \pm 00 - 36,67 \pm 5,77 - 43,33 \pm 5,77 - 52,5 \pm 5$  et  $76,67 \pm 5,77$  % après 24, 48, 72, 96 et 120 h, respectivement. Des valeurs mortalité de  $26,67 \pm 5,77 - 30 \pm 00 - 53,33 \pm 5,77 - 72,50 \pm 5$  et  $86,67 \pm 5,77$  % ont été enregistrées après les mêmes durées, respectivement, avec une concentration de 50 %. En ce qui concerne la concentration de 25 %, un taux de mortalité de  $25 \pm 7,07$  % a été obtenu après 24 h seulement. Cette valeur atteint  $85 \pm 5,77\%$  à la fin de l'essai (après 120 h).

Pour ces mêmes auteurs, cet extrait aqueux exerce un effet répulsif sur les femelles de *T. absoluta* car le nombre d'œufs pondus sur les feuilles traitées correspond à  $06 \pm 1,41$  œufs/foliole. En effet, il est moins important que celui obtenu sur le témoin avec  $37,25 \pm 13,15$  œufs/foliole.

Ces résultats concordent avec nos résultats sur les  $DL_{50}$  et les  $TL_{50}$ . En effet, la toxicité d'*E. Guyoniana* vis-à-vis des larves de *T. absoluta* augmente avec le temps de contact avec l'extrait et aussi avec la concentration.

Des extraits aqueux bruts obtenus à partir des différentes parties aériennes de *Phytolacca dodecandra* L'Hér. (Phytolacaceae), *Nicotiana* sp. L. (Solanaceae), et de graines d'*Azadirachta indica* L. (Meliaceae) d'*A. sativum* et de *C. citratus* ont été évalués *in vitro* et *in vivo* par SHIBERU [238], aux concentrations de 5 - 7,5 et 10 % sur les larves de *T. absoluta*. Ils ont enregistré un pourcentage moyen de mortalité après 120 h d'exposition aux traitements.

*A. indica* a présenté le taux de mortalité le plus élevé avec 66,54 % *in vivo* et 98,33 % *in vitro*. *In vitro*. Des taux de mortalités larvaires élevés aussi ont été enregistrés avec *C. citratus* (96,67 %) et *A. sativum* (95 %) à une concentration de 10 %. Tandis que, le pourcentage de mortalité le plus faible a été noté avec les extraits de *P. dodecandra* *in vivo* et *in vitro*.

Tous les travaux cités ci-dessus ont montré l'efficacité des différents E.Vx obtenus à partir de plusieurs plantes. Cependant, il ressort de nos résultats aussi l'efficacité des différents E.Vx à différentes concentrations notamment les extraits alcooliques et les H.Es. Cette action est attribuée à leurs richesses en métabolites secondaires en particulier les polyphénols et les terpènes qui sont dotés d'un pouvoir insecticide très remarquable.

En effet, les plantes ont été toujours considérées comme étant des ressources bioactives ayant la capacité de synthétiser une multitude de substances chimiques actives, représentées essentiellement par les métabolites secondaires qui sont en relation étroite avec les mécanismes de défense à l'égard des différents bioagresseurs tels que ; les mauvaises herbes, les microbes et les insectes. La compréhension du rôle qu'elles peuvent engendrer dans la protection des végétaux a permis leur exploitation dans des programmes de lutte intégrée [239].



Selon PHYLOGENE et *al.*, [3], les pesticides d'origine biologique fabriqués à partir des E.Vx possèdent des potentiels insecticides remarquables, par la complexité de leurs constituants et la grande diversité de leur mode d'action aussi. A titre d'exemple, les chercheurs ont développé et commercialisé différents insecticides d'origine végétale ; tels que le pyrèthre, la roténone et le neem.

En effet, REES et HARBORNE [240], ont signalé que les teneurs en composés phénoliques et en terpènes sont à l'origine de la résistance des espèces végétales aux attaques des insectes et des microorganismes nuisibles.

On note aussi que d'après, EL MODAFAR et *al.*, [241], les composés phénoliques représentent un groupe de métabolite complexe comportant plusieurs dérivés comme les coumarines, les flavones, les anthocyanes et les isoflavones. Leur mode d'action dans la résistance des plantes est multiple, car ils peuvent inhiber les enzymes hydrolytiques comme les pectinases, les cellulases, et les protéases et jouent un rôle crucial dans l'inactivation des enzymes ainsi que la biosynthèse des toxines des parasites.

Ce qui a été confirmé par REGNAULT ROGER et PHILOGENE, [3], OKA et *al.*, [242], que certains phénols, cétones, aldéhydes, et terpènes produits par les plantes aromatiques, agissent sur le comportement d'un grand nombre d'insectes phytophages par l'inhibition de l'acétylcholinestérase en agissant au niveau de neurotransmetteur d'octopamine spécifique aux invertébrés.

De même, ils constituent également un des facteurs de défense en formant une barrière mécanique qui empêche la diffusion des toxines des parasites vers l'hôte [241].

Enfin, concernant le mode d'action de ces H.Es, peu de travaux ont été réalisés dans ce sens. Ainsi, chez certains insectes, les H.Es agissent comme des fumigants toxiques grâce à leur grande volatilité et étant lipophiles. Elle peuvent aussi pénétrer dans la cuticule rapidement et interfèrent ainsi avec les fonctions physiologiques [243].

Du point de vue pesticide, les différents E.Vx obtenus à partir du genre *Daucus* et *Thymus* exercent une toxicité remarquable vis-à-vis des organismes testés, En

effet, cette bonne action est en corrélation avec les teneurs en polyphénols et en terpènes aussi, confirmant l'hypothèse de BOULOGNE [244], qui a classé l'action des différents métabolites produits par les plantes, selon leur efficacité (Figure 6.67).

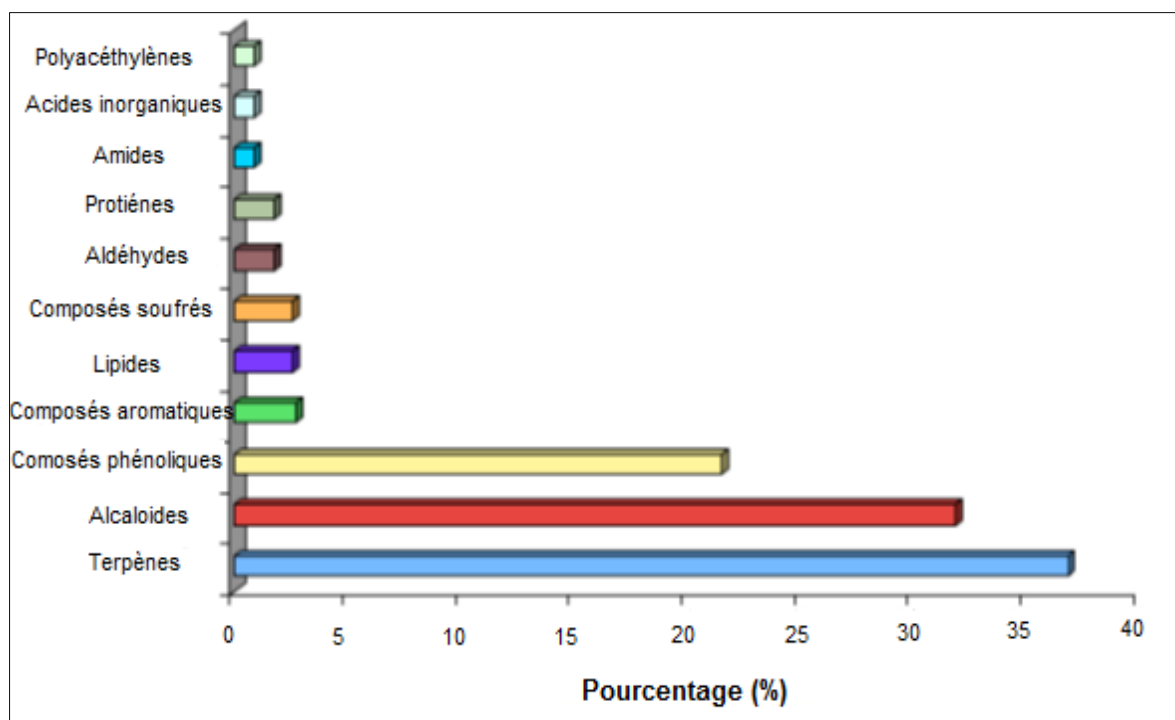


Figure 6.67 : Pourcentage des métabolites secondaires responsables de l'activité insecticide [244]

Cette hypothèse est en parfait accord avec nos résultats, en confirmant que les terpènes et les composés phénoliques sont dotés d'un important potentiel insecticide [244]

#### 6.11. Activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

L'évaluation des activités antimicrobiennes des E.Vx obtenus à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* et des feuilles de *T. numidicus* a été partagée en deux parties. On a l'action de ces extraits sur les germes pathogènes à l'Homme et l'action de ces extraits sur des souches phytopathogènes.

### 6.11.1. Activité antibactérienne des antibiotiques synthétiques

L'activité antibactérienne des E.Vx a été évaluée par les méthodes qualitative et quantitative aussi, en comparant les effets de ces extraits sur les souches pathogènes à l'Homme avec l'action des antibiotiques synthétiques de référence Sigma-Aldrich sur ces mêmes souches (Tableau 6.62).

Tableau 6.622 : Activité antimicrobienne des antibiotiques synthétiques

Microbes	Antibiotiques	diamètre d'inhibition (mm)
<b><i>E. coli</i></b>	Kanamycine	14,33
	Céphalexine	18,50
	Carbenicilline	23,00
<b><i>P. aeruginosa</i></b> <b><i>P. fluoresces</i></b>	Carbenicilline	14,33
	Céphalexine	18,50
<b><i>B. subtilis</i></b>	Bacitracine	11,50
	Céphalexine	21,00
	Kanamycine	23,00
<b><i>S. aureus</i></b>	Céphalexine	20,33
	Amoxicilline	24,33
<b><i>C. albicans</i></b> <b><i>S. cerevisiae</i></b>	Fluconazole	36,00
	Fluconazole	35,00

### 6.11.2. Activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur les souches pathogènes à l'Homme

Les résultats de l'effet antimicrobien des différents E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur la croissance des souches microbiennes testées sont représentés dans les tableaux : 6.63, 6.64, 6.65, 6.66, 6.67, 6.68, 6.69, 6.70 et 6.71.

Tableau 6.633 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *E. coli*

Microbe	Extraits (D.C)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
<b><i>E. coli</i></b>  <b>Gram-</b>	H.E	11	0,5	> 2	ND
	Hexanique	7,66	> 2	> 2	ND
	Ether de pétrole	8,66	> 2	> 2	ND
	Butanolique	12,66	2	> 2	ND
	Chloroformique	8	2	> 2	ND
	Acétate d'éthyle	14,33	2	> 2	ND
	Méthanolique	15,33	0,25	0,5	2
	Ethanolique	15	0,25	0,5	2
	Aqueux	8	> 2	> 2	ND

D'après ce tableau, ce germe s'avère insensible aux différents E.Vx testés, à l'exception des extraits alcooliques qui sont actifs à l'égard de cette souche, avec une action bactéricide.

L'activité de ces extraits est proche de celle de la kanamycine et la céphalexine. Mais elle est inférieure à celle de la carbenicilline.

Tableau 6.644 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *P. aeruginosa*

Microbe		Extraits (D.C)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram-	<i>P. aeruginosa</i>	H.E	10,33	1	> 2	ND
		Hexanique	7	> 2	> 2	ND
		Ether de pétrole	7,33	> 2	> 2	ND
		Butanolique	9	> 2	> 2	ND
		Chloroformique	7,33	> 2	> 2	ND
		Acétate d'éthyle	9	> 2	> 2	ND
		Méthanolique	15	0,5	2	4
		Ethanolique	10,33	2	> 2	ND
		Aqueux	6,66	> 2	> 2	ND

Il ressort de ce tableau que tous les extraits testés s'avèrent inefficace contre le développement de *P. aeruginosa*, excepté l'extrait méthanolique qui est actif à l'égard de cette souche avec une zone d'inhibition de 15 mm. Une action bactéricide est enregistrée avec l'extrait méthanolique. Tous les extraits testés sont moins efficaces que l'antibiotique synthétique, la carbenicilline.

Tableau 6.655 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *P. fluoresces*

Microbe		Extraits (D.C)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram-	<i>P. fluoresces</i>	H.E	10,33	2	> 2	ND
		Hexanique	7,33	> 2	> 2	ND
		Ether de pétrole	8	> 2	> 2	ND
		Butanolique	12,33	> 2	> 2	ND
		Chloroformique	8	> 2	> 2	ND
		Acétate d'éthyle	11,66	> 2	> 2	ND
		Méthanolique	16	0,25	0,5	2
		Ethanolique	15,33	0,5	1	2
		Aqueux	7	> 2	> 2	ND

D'après le tableau 6.65, cette bactérie est sensible à l'égard des extraits méthanolique et éthanolique avec des effets bactéricides. *P. fluoresces* est plus sensible à la céphalexine par rapport à tous les extraits testés.

Tableau 6.666 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *B. subtilis*

Microbe \ Extraits (D.C)		Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
<b>B. subtilis</b>  <b>Gram+</b>	H.E	16,5	0,125	1	8
	Hexanique	10,33	2	> 2	ND
	Ether de pétrole	15,33	0,5	2	4
	Butanolique	15,66	0,25	0,5	2
	Chloroformique	10,66	1	> 2	ND
	Acétate d'éthyle	15,66	0,5	1	2
	Méthanolique	18	0,125	0,125	1
	Ethanolique	18	0,125	0,125	1
	Aqueux	10,66	2	> 2	ND

Après l'analyse de ce tableau, on conclue que *B. subtilis* est plus sensible que les bactéries citées ci-dessus. Tous les extraits testés ont un bon pouvoir antimicrobien à l'exception des extraits hexanique, chloroformique et aqueux.

Les extraits de l'H.E, de l'éther de pétrole, de l'acétate d'éthyle, du butanol, du méthanol et de l'éthanol sont bactéricides, ont une action proche de celle des antibiotiques synthétiques ; la bacitracine et la céphalexine.

Tableau 6.677 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *S. aureus*

Microbe \ Extraits (D.C)		Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
<b>S. aureus</b>  <b>Gram+</b>	H.E	16,33	0,125	0,5	4
	Hexanique	11,33	2	> 2	ND
	Ether de pétrole	15,33	0,5	1	2
	Butanolique	18,66	0,25	0,25	1
	Chloroformique	14	0,5	1	2
	Acétate d'éthyle	22	0,125	0,125	1
	Méthanolique	22,66	0,125	0,125	1
	Ethanolique	22	0,125	0,125	1
	Aqueux	10	2	> 2	ND

Tous les E.Vx testés agissent défavorablement sur la croissance de *S. aureus* avec des diamètres des zones d'inhibition qui sont compris entre 14 et 22,66 mm,

excepté l'extrait hexanique et l'extrait aqueux qui ont un diamètre de la zone d'inhibition faible. De même, l'action de la céphalexine (20,33 mm) correspond à celle des extraits alcooliques et l'extrait de l'acétate d'éthyle. Tous ces extraits ont une action bactéricide.

Tableau 6.68 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *C. albicans*

Microbe		Extraits (D.C)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b><i>C. albicans</i></b>  <b>Levure</b>		H.E	16	0,25	1	4
		Hexanique	14	0,5	2	4
		Ether de pétrole	14,66	0,5	2	4
		Butanolique	20	0,125	0,125	1
		Chloroformique	14,33	0,5	2	4
		Acétate d'éthyle	17,33	0,125	0,125	1
		Méthanolique	26,33	0,125	0,125	1
		Ethanolique	22,33	0,125	0,125	1
		Aqueux	13,33	0,25	2	8

D'après les résultats renseignés dans le tableau 6.68, on constate que cette levure est sensible à tous les extraits testés avec des diamètres des zones d'inhibition moyens à importants allant de 14 à 26,33 mm. Tous les extraits testés sont fongicides, à l'exception de l'extrait aqueux qui est fongistatique. Le fluconazole présente une activité antifongique plus importante que celle de tous les extraits testés.

Tableau 6.69 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *S. cerevisiae*

Microbe		Extraits (D.C)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b><i>S. cerevisiae</i></b>  <b>Levure</b>		H.E	16	0,125	0,5	8
		Hexanique	10	> 2	> 2	ND
		Ether de pétrole	11,33	2	> 2	ND
		Butanolique	18,66	0,125	0,25	2
		Chloroformique	10,33	0,25	1	ND
		Acétate d'éthyle	14,66	0,25	0,5	2
		Méthanolique	21,66	0,125	0,125	1
		Ethanolique	20	0,125	0,125	1
		Aqueux	10	2	> 2	ND

*S. cerevisiae* est levure très sensible à tous les extraits testés, excepté les extraits aqueux et hexanique qui s'avèrent inefficaces vis-à-vis cette levure. Les

diamètres des zones d'inhibition sont moyens à bons, Ils varient entre 10 et 21,66 mm. Les extraits alcooliques et l'extrait de l'acétate d'éthyle sont fongicides, tandis que l'H.E est fongistatique. Cette levure est très sensible au fluconazole avec un diamètre de la zone d'inhibition de 36 mm qui est supérieur aux diamètres des autres extraits.

Tableau 6.680 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *A. fumigatus*

Microbe		Extraits (D.C)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b><i>A. fumigatus</i></b>  <b>Champignon</b>	H.E		75,71	0,5	1	2
	Hexanique		63,89	0,5	1	2
	Ether de pétrole		67,37	0,5	1	2
	Butanolique		68,75	0,5	1	2
	Chloroformique		66,66	0,5	0,5	1
	Acétate d'éthyle		69,46	0,125	0,25	2
	Méthanolique		74,31	0,125	0,125	1
	Ethanolique		70,83	0,125	0,125	1
	Aqueux		58,33	1	2	2

Tous les extraits testés ont une bonne action sur l'inhibition de la croissance mycélienne à l'exception de l'extrait aqueux qui s'avère moyen avec un pourcentage d'inhibition de 58,33 %. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne le plus important est obtenu avec les extraits alcooliques et l'H.E.

Les CMI sont comprises entre 0,125 et 1 % et les CMF sont comprises entre 0,125 et 2 %. Tous les extraits testés sont fongicides.

Tableau 6.691 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *A. niger*

Microbe		Extraits (D.C)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b><i>A. niger</i></b>  <b>Champignon</b>	H.E		59,17	0,5	2	4
	Hexanique		39,17	> 2	ND	ND
	Ether de pétrole		49,17	2	> 2	ND
	Butanolique		60	0,5	2	4
	Chloroformique		45	> 2	ND	ND
	Acétate d'éthyle		55	0,5	2	4
	Méthanolique		63,35	0,5	2	4
	Ethanolique		64,17	0,5	2	4
	Aqueux		32,5	> 2	ND	ND

Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de l'*A. niger* sont bons avec les extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle ainsi que l'H.E de *D. carota* ssp. *carota*. Ces derniers présentent une action fongicide, tandis que les autres extraits présentent un faible taux d'inhibition.

Les CMI enregistrées sont comprises entre 0,5 et 2 %, par contre les CMF sont de l'ordre de 2 %.

Les bactéries Gram+ à savoir *B. subtilis* et *S. aureus*, ainsi que sur les deux levures *C. albicans* et *S. cerevisiae*, sont sensibles aux différents extraits testés.

Par contre, des zones d'inhibition faibles ont été observées autour d'*E. coli*, de *P. aeruginosa* et de *P. fluoresces*. Ces bactéries Gram- possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota*.

En effet, ils sont considérés comme un agent à large spectre d'inhibition de la croissance microbienne de ces souches.

Il est à noter que les valeurs des CMI obtenues sont assez faibles se situant entre 0,125 et 2 %. Mais, les CMB et les CMF sont un peu plus importantes ; ce qui montre un large spectre d'activité des extraits testés vis-à-vis de ces pathogènes.

#### 6.11.3. Activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur les souches phytopathogènes

La résistance des souches phytopathogènes a été testée par l'estimation de la zone d'inhibition de la croissance des souches traitées par les différents E.Vx. Ainsi que par l'évaluation par les méthodes qualitative et quantitative (Tableaux 6.72, 6.73 et 6.74).



Tableau 6.702 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *Fusarium* sp.

Microbe		Extraits (D.C)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<i>Fusarium</i> sp. (champignon)	H.E		77,04	0,125	0,125	1
	Hexanique		56,31	0,5	2	4
	Ether de pétrole		65,93	0,5	1	2
	Butanolique		70,38	0,5	0,5	1
	Chloroformique		60	0,5	2	4
	Acétate d'éthyle		66,66	0,5	1	2
	Méthanolique		75,55	0,125	0,125	1
	Ethanolique		74,09	0,125	0,125	1
	Aqueux		51,87	0,5	2	4

Tous les E.Vx testés sont efficaces à l'égard de l'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium* sp. avec un pourcentage d'inhibition moyen à bon, il oscille entre 51,87 et 75,55 %.

Les CMI obtenues sont faibles, elles se situent entre 0,125 et 0,5 % seulement. Tandis que les CMF sont plus importantes, elles varient entre 0,125 et 2 %. Tous les extraits testés sont fongicides.

Tableau 6.713 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *R. solani*

Microbe		Extraits (D.C)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<i>R. solani</i> Champignon	H.E		73,19	0,125	0,125	1
	Hexanique		55,09	1	2	2
	Ether de pétrole		61,61	0,5	1	2
	Butanolique		68,85	0,5	0,5	1
	Chloroformique		57,27	0,5	1	2
	Acétate d'éthyle		65,96	0,5	1	2
	Méthanolique		72,48	0,25	0,25	1
	Ethanolique		69,56	0,25	0,25	1
	Aqueux		45,65	2	> 2	ND

Tous les E.Vx testés exercent une activité fongicide sur la croissance des filaments de *R. solani*, avec des pourcentages d'inhibition allant de 55,09 à 73,19 %, avec une action fongicide. Notons que l'extrait aqueux a un faible pourcentage d'inhibition de 45,65 %.

Tableau 6.724 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur *P. carotovorum*

Microbe		Extraits (D.C)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMF (%)	Action
Gram-	<i>P. Carotovorum</i>	H.E	16	0,5	1	2
		Hexanique	9	> 2	ND	ND
		Ether de pétrole	8	> 2	ND	ND
		Butanolique	15,33	2	2	1
		Chloroformique	7,66	> 2	ND	ND
		Acétate d'éthyle	12	2	> 2	ND
		Méthanolique	15	0,5	1	2
		Ethanolique	14,33	0,5	2	4
		Aqueux	7,33	> 2	ND	ND

Le *P. carotovorum* est très résistant à l'égard des extraits testés. Ainsi, il présente des diamètres des zones d'inhibition faibles pour les extraits hexanique, l'éther de pétrole, chloroformique et aqueux, et des diamètres des zones d'inhibition moyens à bons allant de 12 à 16 mm pour les autres extraits. Les CMI et les CMF sont comprises entre 0,5 et 4 %. Les extraits butanolique, éthanolique, méthanolique et l'H.E sont bactéricides.

#### 6.11.4. Activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur les souches pathogènes à l'Homme

Les résultats de l'effet antimicrobien des différents E.Vx de *T. numidicus* sur la croissance des souches microbiennes testées sont représentés dans les tableaux 6.75, 6.76, 6.77, 6.78, 6.79, 6.80, 6.81, 6.82 et 6.83.

Tableau 6.735 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *E. coli*

Microbe		Extraits (T.N)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram-	<i>E. coli</i>	H.E	17,66	0,25	0,5	2
		Hexanique	10,33	2	> 2	ND
		Ether de pétrole	11,66	2	> 2	ND
		Butanolique	15,66	0,5	2	4
		Chloroformique	10,66	1	> 2	ND
		Acétate d'éthyle	15,5	0,5	2	4
		Méthanolique	18,66	0,25	0,5	2
		Ethanolique	17,33	0,25	0,5	2
		Aqueux	8,33	> 2	> 2	ND

Ce germe est considéré comme peu résistant aux différents extraits testés, à l'exception des extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'H.E qui sont actifs à l'égard de cette souche. Les extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'H.E sont bactéricides. L'activité de ces extraits est proche de celle de la kanamycine et la céphalexine. Par contre, elle est inférieure à celle de la carbenicilline.

Tableau 6.746 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *P. aeruginosa*

Microbe		Extraits (T.N)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram-	<i>P. aeruginosa</i>	H.E	15,33	0,5	0,25	2
		Hexanique	7,33	> 2	> 2	ND
		Ether de pétrole	8	> 2	> 2	ND
		Butanolique	11,33	2	> 2	ND
		Chloroformique	11	2	> 2	ND
		Acétate d'éthyle	11,33	> 2	> 2	ND
		Méthanolique	15,33	0,5	0,5	1
		Ethanolique	15	1	2	2
		Aqueux	6,66	2	> 2	ND

D'après l'analyse de ce tableau, la bactérie *P. aeruginosa* est résistante vis-à-vis des extraits de l'hexane, de l'éther de pétrole, du chloroforme et aqueux. Tandis que les extraits méthanolique, éthanolique ainsi que l'H.E sont plus efficaces à l'égard de cette souche avec une action bactéricide. Ces extraits ont la même action que la carbenicilline, qui a présenté un diamètre d'inhibition de 14,33 mm. Tandis qu'ils sont moins résistants que la céphalexine qui a montré un diamètre d'inhibition de 18,5 mm.

Tableau 6.757 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *P. fluoresces*

Microbe		Extraits (T.N)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram-	<i>P. fluoresces</i>	H.E	15,66	0,125	0,5	2
		Hexanique	10	2	> 2	ND
		Ether de pétrole	11,33	1	> 2	ND
		Butanolique	15,33	0,5	2	4
		Chloroformique	9	2	> 2	ND
		Acétate d'éthyle	15	0,5	2	4
		Méthanolique	15,66	0,25	0,25	1
		Ethanolique	15,33	0,25	0,25	1
		Aqueux	7	> 2	> 2	ND

Suite aux résultats présentés dans ce tableau, on constate que cette bactérie est sensible à l'égard des extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'H.E. Des actions bactéricides sont enregistrées avec ces extraits. *P. fluoresces* est plus sensible à la céphalexine par rapport à l'ensemble des extraits testés.

Tableau 6.78 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx *T. de numidicus* sur *B. subtilis*

Microbe		Extraits (T.N)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram+	<i>B. subtilis</i>	H.E	22,33	0,125	0,125	1
		Hexanique	12,33	1	2	2
		Ether de pétrole	14,33	0,5	0,5	1
		Butanolique	16,33	0,25	0,25	1
		Chloroformique	12,66	1	2	2
		Acétate d'éthyle	15,33	0,5	1	2
		Méthanolique	22,66	0,125	0,125	1
		Ethanolique	22	0,125	0,125	1
		Aqueux	12,33	1	> 2	2

*B. subtilis* est une bactérie sensible à l'égard des différents E.Vx testés avec des effets bactéricides.

L'activité antimicrobienne de ces extraits est proche de celle des antibiotiques synthétiques à savoir la bacitracine, la céphalexine et la kanamycine.

Tableau 6.79 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *S. aureus*

Microbe		Extraits (T.N)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMB (%)	Action
Gram+	<i>S. aureus</i>	H.E	35,33	0,125	0,125	1
		Hexanique	11,66	2	> 2	ND
		Ether de pétrole	16	0,5	1	2
		Butanolique	26,33	0,25	0,25	1
		Chloroformique	15	0,5	1	2
		Acétate d'éthyle	26,33	0,125	0,125	1
		Méthanolique	32,66	0,125	0,125	1
		Ethanolique	31,66	0,125	0,125	1
		Aqueux	11	2	> 2	ND

Tous les E.Vx testés possèdent des actions bactéricides à l'égard de *S. aureus* excepté l'extrait hexanique et l'extrait aqueux.

Les diamètres des zones d'inhibition des extraits alcooliques, de l'acétate d'éthyle et de l'H.E oscillent entre 26,33 et 35,33, ils sont plus importants que ceux de la céphalexine (20,33 mm) et de l'amoxicilline (24,33 mm).

Tableau 6.760 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *C. albicans*

Microbe \ Extraits (T.N)		Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b><i>C. albicans</i></b>  <b>Levure</b>	H.E	36	0,125	0,125	1
	Hexanique	17,33	0,5	1	2
	Ether de pétrole	19,66	0,5	1	2
	Butanolique	33,66	0,125	0,125	1
	Chloroformique	18	0,5	1	2
	Acétate d'éthyle	23,33	0,125	0,25	1
	Méthanolique	36,33	0,125	0,125	1
	Ethanolique	32,33	0,125	0,125	1
	Aqueux	16,66	0,25	1	4

Il ressort des résultats présentés dans le tableau 6.80, que *C. albicans* est sensible à tous les E.Vx testés avec des diamètres des zones d'inhibition qui varient de 14,33 à 36 mm, et des actions fongicides.

Le fluconazole présente une activité antifongique proche de celle des extraits alcooliques et de l'H.E.

Tableau 6.771 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *S. cerevisiae*

Microbe \ Extraits (T.N)		Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b><i>S. cerevisiae</i></b>  <b>Levure</b>	H.E	30,33	0,125	0,125	1
	Hexanique	10,33	0,25	2	4
	Ether de pétrole	12	0,25	2	4
	Butanolique	23,33	0,125	0,25	2
	Chloroformique	11,33	0,25	1	4
	Acétate d'éthyle	16	0,25	0,5	2
	Méthanolique	25,66	0,125	0,125	1
	Ethanolique	25,23	0,125	0,125	1
	Aqueux	10,66	1	> 2	ND

Tous les extraits testés présentent une activité antimicrobienne à l'égard de *S. cerevisiae*, excepté les extraits hexanique et aqueux qui sont moins efficaces à l'encontre de cette levure. Les diamètres des zones d'inhibition les plus importants

sont obtenus avec les extraits alcooliques et l'H.E. Tous ces extraits sont fongicides. Cette levure est très sensible au fluconazole avec un diamètre d'inhibition de 36 mm qui est supérieur aux diamètres de tous les E.Vx testés.

Tableau 6.782 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *A. fumigatus*

Microbe		Extraits (T.N)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b>A. fumigatus</b>  <b>Champignon</b>		H.E	80,56	0,5	0,5	1
		Hexanique	66,66	0,5	1	2
		Ether de pétrole	72,92	0,5	0,5	1
		Butanolique	73,62	0,5	1	2
		Chloroformique	68,75	0,5	0,5	1
		Acétate d'éthyle	72,23	0,125	0,25	2
		Méthanolique	77,79	0,125	0,125	1
		Ethanolique	75	0,125	0,125	1
		Aqueux	62,5	1	1	1

Tous les E.Vx testés ont un effet sur l'inhibition de la croissance mycélienne, avec des actions fongicides.

Tableau 6.793 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *A. niger*

Microbe		Extraits (T.N)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<b>A. niger</b>  <b>Champignon</b>		H.E	68,35	0,5	2	4
		Hexanique	45	> 2	ND	ND
		Ether de pétrole	51,67	2	> 2	ND
		Butanolique	61,67	0,5	2	4
		Chloroformique	50	2	ND	ND
		Acétate d'éthyle	59,17	0,5	2	4
		Méthanolique	68,35	0,5	2	4
		Ethanolique	65	0,5	2	4
		Aqueux	39,17	> 2	ND	ND

Les pourcentages d'inhibition de la croissance de l'*A. niger* sont bons avec les extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle ainsi que l'H.E de *T. numidicus* avec des actions fongicides. Par contre, un faible taux d'inhibition est enregistré avec les autres extraits, à savoir ; les extraits hexanique, de l'éther de pétrole, chloroformique, et aqueux.

Les bactéries Gram+ à savoir *B. subtilis* et *S. aureus*, ainsi que les deux levures *C. albicans* et *S. cerevisiae* sont plus sensibles aux extraits testés que les bactéries Gram-.

Des zones d'inhibition faibles ont été observées autour d'*E. coli*, *P. aeruginosa* et *P. fluoresces*. Ces bactéries Gram- possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus*, qui est considérée comme peu inhibitrice.

Il est à noter que les valeurs des CMI obtenues sont assez faibles se situant entre 0,125 et 2 %, les CMB et les CMF sont un peu plus importantes ; ce qui explique le potentiel antimicrobien des différents extraits testés à l'encontre des micro-pathogènes testés.

#### 6.11.5. Activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur les souches phytopathogènes

L'efficacité des E.Vx à l'égard des souches phytopathogènes a été interprétée dans les tableaux : 6.84, 6.85 et 6.86.

Tableau 6.804 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *Fusarium sp.*

Microbe		Extraits (T.N)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
Fusarium sp.  Champignon	H.E		80	0,125	0,25	2
	Hexanique		60	0,5	2	4
	Ether de pétrole		66,66	0,5	1	2
	Butanolique		74,09	0,5	0,5	1
	Chloroformique		62,98	0,5	2	4
	Acétate d'éthyle		69,64	0,5	2	4
	Méthanolique		78,53	0,125	0,125	1
	Ethanolique		77,04	0,125	0,125	1
	Aqueux		57,04	0,5	2	4

Tous les E.Vx testés sont efficaces à l'égard de la croissance mycélienne de *Fusarium sp.*, les pourcentages d'inhibition oscillent entre 57,04 et 80 % avec des actions fongicides.

Les CMI sont faibles, elles se situent entre 0,125 et 0,5 % seulement et les CMF sont plus importantes entre 0,125 et 2 %.

Tableau 6.815 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *R. solani*

Microbe		Extraits (T.N)	Pourcentage d'inhibition (%)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<i>R. solani</i>  Champignon	H.E		77,54	0,125	0,25	2
	Hexanique		59,43	0,5	2	2
	Ether de pétrole		65,22	0,5	2	4
	Butanolique		71,74	0,5	1	2
	Chloroformique		60,87	0,5	1	2
	Acétate d'éthyle		68,85	0,5	1	2
	Méthanolique		78,26	0,25	0,25	1
	Ethanolique		76,09	0,25	0,25	1
	Aqueux		54,35	2	> 2	ND

Tous les E.Vx exercent une activité fongicide remarquable sur la croissance des filaments de *R. solani*, avec des pourcentages d'inhibition allant de 54,35 à 77,54 %, à l'exception de l'extrait aqueux.

Tableau 6.826 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* sur *P. carotovorum*

Microbe		Extraits (T.N)	Diamètre d'inhibition (mm)	CMI (%)	CMF (%)	Action
<i>P. Carotovorum</i>  Gram-	H.E		16	0,5	1	2
	Hexanique		10	> 2	ND	ND
	Ether de pétrole		9	> 2	ND	ND
	Butanolique		15,33	1	1	1
	Chloroformique		6,66	> 2	ND	ND
	Acétate d'éthyle		15	0,5	1	2
	Méthanolique		15	0,5	1	2
	Ethanolique		15,33	0,5	1	2
	Aqueux		7,33	> 2	ND	ND

Le *P. carotovorum* est très résistant à l'égard des extraits testés. Il présente des diamètres des zones d'inhibition faibles pour les extraits hexanique, de l'éther de pétrole, chloroformique et aqueux ; et des diamètres des zones d'inhibition bons allant de 15 à 16 mm pour les autres extraits avec une action fongicide.

Les résultats de cette étude, permettent de noter que les extraits alcooliques ainsi que les H.Es des deux plantes testées sont efficaces à l'égard des bactéries Gram+, des levures et des champignons. Par ailleurs les bactéries Gram- s'avèrent moins sensibles que les autres souches.



Les différents extraits testés exercent des activités antimicrobiennes distinctes à l'égard des souches testées, ces variations sont en relation directe avec la nature du solvant utilisé, la souche testée, la concentration utilisée et la composition chimique des extraits testés.

#### 6.12. Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* à l'égard des bactéries pathogènes à l'Homme

L'analyse de la variance a été basée sur le test de Student-Newman-Keuls à un intervalle de confiance de ( $P \leq 0,05$ ) est représenté dans le tableau 6.89.

Tableau 6.837 : Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* à l'égard des bactéries pathogènes à l'Homme

<b>Facteurs de variation (R<sup>2</sup>= ,998)</b>	<b>ddl</b>	<b>Moyenne des carrés</b>	<b>P-valeur</b>	<b>Signification (P ≤ 0,05)</b>
<b>Plantes</b>	1,00	1224,960	0,05	NS
<b>Germes</b>	4,00	2491,239	< 0,0001	THS
<b>Extraits</b>	9,00	1832,629	< 0,0001	THS
<b>Plantes*Germes</b>	4,00	47,669	< 0,0001	THS
<b>Plantes*Extraits</b>	9,00	72,147	< 0,0001	THS
<b>Germes*Extraits</b>	36,00	123,774	< 0,0001	THS
<b>Plantes*Germes*Extraits</b>	36,00	12,406	< 0,0001	THS

Selon le 6.87, les germes et les extraits testés ont une action significative, ce qui explique que la nature du germe et l'extrait aussi sont en relation étroite, plus le germe est résistant, plus l'extrait est inefficace. Tandis que les deux plantes agissent d'une manière semblable sur les souches testées

#### 6.13. Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* à l'égard des levures pathogènes à l'Homme

Le tableau 6.90 représente l'analyse de la variance avec le test de Student-Newman-Keuls et un intervalle de confiance de ( $P \leq 0,05$ ).

Tableau 6.88 : Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* à l'égard des levures pathogènes à l'Homme.

Facteurs de variation (R <sup>2</sup> =0,998)	ddl	Moyenne des carrés	P-valeur	Signification (P ≤ 0,05)
Plantes	1,00	2669,633	< 0,05	NS
Germes	9,00	1430,367	< 0,0001	THS
Extraits	1,00	1128,533	< 0,0001	THS
Plantes*Germes	9,00	142,819	< 0,0001	THS
Plantes*Extraits	1,00	246,533	< 0,0001	THS
Germes* Extraits	9,00	94,163	< 0,0001	THS
Plantes*Germes *Extraits	9,00	13,904	< 0,0001	THS

Les résultats présentés dans le tableau 6.88, montrent que les germes, les extraits procèdent d'une manière significative. En effet, les deux plantes testées agissent de la même façon sur toutes les souches testées.

#### 6.14. Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* l'égard des souches phytopathogènes

Le test de Student-Newman-Keuls à un intervalle de confiance de (P ≤ 0,05) a été utilisé pour l'analyse de la variance (Tableau 6.89)

Tableau 6.89 : Analyse de la variance de l'activité antimicrobienne des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* à l'égard des souches phytopathogènes.

Facteurs de variation (R <sup>2</sup> = 0,998)	ddl	Moyenne des carrés	P	Signification (P ≤ 0,05)
Plantes	1,00	184,083	< 0,05	NS
Germes	4,00	536,155	0,001	HS
Extraits	9,00	2679,511	0,001	HS
Plantes*Germes	4,00	1,258	0,001	HS
Plantes*Extraits	9,00	3,402	0,001	HS
Germes*Extraits	36,00	31,988	< 0,0001	THS
Plantes*Germes*Extraits	36,00	0,669	0,001	HS

D'après les résultats du tableau 6.89, on remarque que les deux plantes agissent de la même manière sur la croissance microbienne des souches testées. Tandis que les extraits ont une action significative à l'égard microbes phytopathogènes testés.

STANISZEWSKA et *al.*, [104], ont précisé que l'H.E des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* de Pologne présente des CMI respectivement de 3 - 4 - 5 - 8 et > 8 µL/mL chez les différents microorganismes à savoir ; *B. subtilis*, *S. aureus*,

*C. albicans*, *E. coli*, et *P. aeruginosa*. L'H.E testée se compose essentiellement de 84,0 % de monoterpènes hydrocarbonés avec 42 % d' $\alpha$ -pinène et 19,5 % de sabinène ; d'où son importance comme agent antimicrobien.

Concernant l'évaluation des CMI et des CMB, MAXIA et *al.*, [105], ont montré que les H.Es des feuilles et des tiges de *D. carota* extraites par hydrodistillation et par le CO<sub>2</sub> super critique présentent divers degrés d'inhibition contre les différents types de microbes étudiés soit : *Candida*, *Aspergillus*, *Mycrosporium Gruby* (1843) (*Arthrodermataceae*), avec des CMI de 0,16 à 25  $\mu$ L/mL, et des CMB de 0,64 à 20  $\mu$ L/mL. L'activité la plus importante est observée chez les H.Es riche en monoterpènes oxygénés.

Selon MESSARA et *al.*, [109], l'H.E de *T. numidicus* s'est avérée efficace contre le développement d'*E. coli*, de *S. aureus*, de *P. aeruginosa* et de *C. albicans* ; les pourcentages d'inhibition sont de 36,19 - 43 et 90 % respectivement. Le thymol (monoterpène) qui est représenté par 40,40 % de la composition chimique de cette H.E est responsable de la grande sensibilité des souches testées.

D'après ABDOUNE et *al.*, [176], les extraits chloroformique et éthanolique obtenus à partir des fleurs de *D. crinitus* récoltées à Tlemcen, présentent des activités antimicrobiennes légères à bonnes contre *S. aureus*, *B. cereus*, *C. albicans* et *E. coli* avec des CMI qui varient respectivement de 0,42 à 8,33 mg/mL et de 0,83 à 6,67 mg/mL. Notons que les CMI sont indéterminées pour l'extrait aqueux. La meilleure activité antimicrobienne est due à la présence des anthocyanes (polyphénols) en quantités importantes dans les extraits chloroformique et éthanolique.

L'étude de l'activité antimicrobienne menée par TREKI et *al.*, [178], sur l'efficacité des extraits de l'éther diéthylique, de l'acétate d'éthyle et du butanol obtenus à partir des feuilles de *T. hirtus* à l'égard de *Bacillus amyloliquefaciens*, (ex Fukumoto, 1943), *Staphylococcus sp.*, *E. coli*, *Pseudomonas sp.* a montré la grande sensibilité de *B. amyloliquefaciens* à la fraction de l'acétate d'éthyle. En effet, cet extrait s'est montré le plus efficace sur l'ensemble des souches testées.

Ces résultats indiquent que le contenu flavonique des fractions de l'acétate d'éthyle et le butanol présente une meilleure activité antibactérienne

comparativement à celle de la phase de l'éther diéthylique. Notons que, l'extrait flavonique de la phase n-butanol est actif sur les trois souches Gram- négatives.

Selon PAVLYUK et *al.*, [187], ayant travaillé sur les extraits hydro-éthanoliques à 70 et 40 %, des graines de *D. carota*, une grande action antimicrobienne contre les bactéries testées Gram+ du genre *S. aureus*, *B. subtilis*, les Gram- du genre *P. aeruginosa* et *E. coli*, les deux levures testées *C. albicans* et *S. cerevisiae* et le champignon *Aspergillus brasiliensis* a été observée. La grande sensibilité des différentes souches testées est enregistrée avec l'extrait hydro-éthanolique à 70 %. Cette importante activité est en relation directe avec la grande teneur en flavonoïdes de type luétine 15,6 mg Eq Lu/g MVS dans l'extrait hydro-éthanolique à 70 %. Et aussi importante teneur en rutine avec 148,05 ppm.

La même équipe précise que les concentrations minimales bactériostatiques vis-à-vis des bactéries Gram+ varient entre 1,56 et 3,125 mg/mL. Pour *C. albicans*, cette valeur égale 6,250 mg/mL. Les concentrations minimales bactéricides sont deux fois plus élevées que les concentrations minimales bactériostatiques.

De même, GLISIC et *al.*, [193], ont signalé aussi que les effets antimicrobiens des H.Es des graines de *D. carota* de la Serbie obtenues par hydrodistillation et par le CO<sub>2</sub> super critique pourraient être dues à une plus grande sensibilité des souches bactériennes et fongiques aux carotol qui représentent respectivement 20 et 30,3 % du total de la composition chimique de cette H.E. En effet, ce potentiel biologique peut être aussi causé par l'activité synergique du carotol avec les autres composés de poids moléculaire plus lourds présents dans les extraits testés.

Pour les mêmes auteurs, Il ressort que les bactéries Gram+, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* et *Rhodococcus equi* (Magnusson, 1923) Goodfellow et Alderson 1977 (Nocardiaceae) et la levure *C. albicans* sont plus sensibles que les bactéries Gram- soit ; *E. coli* et *P. aeruginosa*. Des CMI assez faibles sont obtenues avec les bactéries Gram+ et les levures, elles se situent entre 80 et 640 µg/mL. Tandis que les bactéries Gram- présentent des CMI >1280 µg/mL.

BENDIABDELLAH et *al.*, [197], ont mentionné que les H.Es des parties aériennes et des racines de *D. carota* ssp. *hispanicus* Gouan en provenance de différentes régions de Tlemcen (Algérie) testées sur quatre microorganismes

différents donnent des effets très différents. Elles sont caractérisées par une forte activité contre *C. albicans* (diamètre de la zone d'inhibition moyen entre 26 et 30 mm), et des valeurs de CMI de 0,078 à 0,125 mg/mL. Concernant *B. subtilis*, le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 14 et 16 mm avec des valeurs de CMI allant de 1,2 à 1,5 mg/mL. Cette activité s'avère faible vis-à-vis de *S. aureus* soit ; un diamètre de la zone d'inhibition de 8 à 10 mm et des valeurs de CMI variant de 4,2 à 4,8 mg/mL. Pour ce qui est *E. coli*, on note un diamètre de la zone d'inhibition de 6 mm avec des valeurs de CMI > 5. Selon les mêmes auteurs, la forte activité fongicide de ces H.Es est due principalement à deux composés représentés par l'apiol avec 93,6 à 97,1 % et le myristicine soit de 67,2 à 86,3 % respectivement dans les racines et les parties aériennes.

Cependant, TAVARES et *al.*, [203], ont démontré l'efficacité des H.Es de *D. carota* ssp. *halophilus* du Portugal à l'égard de plusieurs espèces de *Candida* avec des CMI et des CMB de 1,25 µL/mL à 2,5 µL/mL. Cette grande sensibilité est en relation directe avec les quantités élevées d'élémicine (phénylpropènes).

D'après SOKOVIC et *al.*, [204], la plus importante activité antibactérienne de l'H.E des ombelles de *D. carota* de la Serbie est enregistrée chez les bactéries Gram+ telles que *B. cereus* et *P. aeruginosa* avec une CMI de 5 mL/mL et une CMB 10 mL/mL. Par contre *E. coli* présente des valeurs de CMI et de CMB identiques (10 µL/mL). Ces valeurs sont plus élevées par rapport à celles trouvées chez les bactéries Gram+. Les monoterpènes présents en quantités majoritaires tels que l' $\alpha$ -pinène et le sabinène dans l'H.E de cette plante sont responsables de cette bonne activité antimicrobienne.

Selon les travaux de MARZOUKI et *al.*, [205], les sesquiterpènes présents dans les H.Es des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* récoltées dans deux sites différents de la Tunisie ont présenté des CMI de l'ordre de 2,5 % (v/v) à l'égard de deux microorganismes testés soit ; *C. albicans* et *Aspergillus sp.*

ROKBENI et *al.*, [206], ont démontré que toutes les H.Es extraites à partir des graines de *D. carota* d'origine Nord Tunisienne testées sur les bactéries Gram+ (*S. aureus*) et les deux bactéries Gram- à savoir *E. coli* et *Salmonella typhimurium* (Enterobacteriaceae), et contre *C. albicans* présentent des activités

antibactériennes et antifongiques intéressantes. En effet, cette H.E est dominée par les sesquiterpènes hydrocarbonés qui causent une activité antimicrobienne remarquable sur les souches testées.

De plus, KABOUCHE et *al.*, [207], ont précisé que l'H.E de *T. numidicus* exerce une bonne activité inhibitrice contre toutes les souches bactériennes testées avec des diamètres des zones d'inhibition très variés à savoir ; *E. coli*, entre 16 et 20,4 mm, *P. aeruginosa* entre 16 et 16,4 mm, *S. aureus* entre 22,9 et 23,8 mm, 16,6 mm pour *Enterobacter airogenes* (Enterobacteriaceae), 19,6 mm pour *Klebsiella pneumoniae* (Enterobacteriaceae) et 16,41 mm pour *Morganella morganii* (Enterobacteriaceae). Les CMI enregistrées sont faibles, elles varient de 3 à 25 µg/mL. Cette activité peut être due à l'effet synergique des principaux composants représentés essentiellement par des monoterpènes avec 68,2 % de thymol, 16,9 % de carvacrol et 11,5 % de linalol.

Par conséquent, l'H.E de *T. numidicus* a présenté des CMI qui sont de l'ordre 0,117 - 0,234 - 0,469 - 0,234 et 0,469. Tandis que les CMB sont de 0,117 - 0,469 - 0,469 - 0,234 et 0,469 pour *E. coli*, *S. aureus ssp. aureus*, *Staphylococcus marcescens* Bizio 1823, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*. Cette H.E exerce un effet bactéricide sur toutes les souches testées [211].

Par ailleurs KOUCH et *al.*, [212], ont déterminé l'activité antibiotique de l'H.E de *T. numidicus* sur neuf souches de *P. aeruginosa*. Ces dernières ont montré une sensibilité élevée vis-à-vis de cette H.E avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 17,5 mm à 55 mm et une CMI de 0,4 mg/mL. Cette forte activité est corrélée avec la présence des monoterpènes dominants, soit 77,52 % de la composition chimique de l'H.E testée.

D'après JASICA-MISIAK et *al.*, [246], l'activité antimicrobienne de l'H.E du genre *Daucus* est due probablement au carotol, qui représente le composant principal de cette espèce. Le carotol a révélé une activité fongicide contre les phytotoxiques d'*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., 1912 (Pleosporaceae) isolés à partir de la surface des semences de la carotte cultivée.

Selon JOSE ABAD et *al.*, [247], les sesquiterpènes de type carotol, daucol et β-caryophyllène isolés à partir des racines de *D. carota ssp. carota* ont un effet

inhibiteur, soit ; un taux d'inhibition de 65 % de la croissance radiale des champignons *Fusarium oxysporum* (Schltld.) 1824 et *A. niger*. Par contre les esters de sesquiterpène de type daucane issus de la même espèce ont un faible pouvoir antifongique.

Selon ALVES-SILVA, [248], la richesse de l'H.E de *D. carota* ssp. *carota* en monoterpènes tels que le géranyl acétate (29 %), et l' $\alpha$ -pinène (27,2 %), lui attribue une efficacité importante des bactéries Gram+ et la levure *C. albicans*.

Les extraits méthanoliques et les extraits insaponifiables obtenus à partir des feuilles, des graines et des racines de *D. crinitus* récoltées à Tlemcen se sont révélés actifs contre *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans* avec respectivement des CMI de 46,2 à 255  $\mu\text{g/mL}$  et de 400 à 1750  $\mu\text{g/mL}$  [249].

MELIANI et al., [250], ont démontré que l'H.E obtenue à partir des parties aériennes de *D. carota* ssp. *carota* de l'Algérie présente des CMI variables selon la souche microbienne testée. En effet, *E. coli* et *S. aureus* ont des CMI identiques de 2,5 mg/mL, et elles sont très sensibles vis-à-vis de l'extrait testé. Tandis que *P. aeruginosa* est modérément sensible à l'égard de cette H.E avec une CMI de 5 mg/mL. *B. cereus* est considéré comme l'agent pathogène le plus résistant à l'H.E testée avec une CMI > 6 mg/mL. Les fortes activités antimicrobiennes de cette H.E vis-à-vis des souches testées expliquée par la présence des monoterpènes en quantité considérable, soit 90 % de la composition totale de l'H.E.

Cependant YOUSEFBEYK et al., [251], ont montré que les extraits obtenus à partir des fruits de *Daucus littoralis* Smith ssp. *hyrcanicus* Rech. récoltés pendant la fructification en Iran, ont une activité antimicrobienne. Par ailleurs, les CMI de l'extrait de l'acétate d'éthyle et de l'extrait méthanolique sur *S. aureus* sont de 3,75 mg/mL et les CMB sont de 7,5 mg/mL.

Ces mêmes auteurs ont signalé que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait méthanolique s'avèrent moins actifs sur *C. albicans* avec une CMI de 7,8 mg/mL et une CMB de 15,6. Cette activité est due aux terpènes et aux flavonoïdes (lutéoline, quercétine et 3-O- $\beta$ -glucoside) qui ont été isolés à partir des extraits testés.

La richesse de l'H.E des parties aériennes de *D. carota* ssp. *maximus* en monoterpènes tels que : l' $\alpha$ -pinène (22,2 %), le géranyl acétate (16,0 %),  $\beta$ -bisabolène (11,5 %), du Portugal a montré une large activité antifongique, étant particulièrement active contre les dermatophytes et *Cryptococcus neoformans* (levure), avec des valeurs de CMI allant de 0,16 à 0,32  $\mu$ L/mL [252].

BHASHARA-REDDY et al., [253], ont indiqué une bonne activité antifongique de thymol et du cavacrol présents dans l'H.E de *T. vulgaris* contre deux agents pathogènes responsables de détérioration de la fraise à savoir ; *Botrytis cinerea* Pers. 1794 (Sclerotiniaceae) et *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., (1902) (Rhizopodaceae).

En effet, RASOOLI et OWLIA [254], ont étudié l'effet inhibiteur des H.Es de deux thym d'Iran à savoir ; *Thymus eriocalyx* (Ronniger) Jalas, Rech.f. et *Thymus X-porlock* sur les aflatoxines produites par l'*Aspergillus parasiticus* Speare (1912), ils ont trouvé que les H.Es testées présentent une activité antifongique et un pouvoir inhibiteur important et peuvent être utilisées dans la conservation des aliments. Cette bonne activité est due à la présence de thymol en quantités majoritaires dans les deux H.Es analysées.

Ainsi, pour BEHIDJ et al., [255], le *P. fluorescens* et *A. niger*, *A. fumigatus* et *C. albicans* sont résistants à l'égard des flavonoïdes extraits à partir de *Thymus inodorus* L. Mais il est à noter que les bactéries Gram+ telles que *S. aureus* et *S. cerevisiae* se montrent plus sensibles à ces extraits bruts.

Ces mêmes auteurs ont indiqué que la CMI est estimée uniquement avec l'extrait brut. En effet, ces extraits inhibent la croissance des bactéries Gram- à une concentration variant entre 0,5 % et 1 %. Alors que pour les bactéries Gram+, la croissance est limitée à une concentration de 0,5 %.

BEHIDJ et al., [256], ont signalé que l'activité antimicrobienne des extraits organiques et aqueux obtenus à partir des feuilles de *T. numidicus* récoltées à Bouira, est plus importante chez les extraits alcooliques ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle. Ces derniers exercent un pouvoir antimicrobien à l'égard des Gram+ par rapport au Gram-. Tandis que les levures et les champignons testés sont résistants vis-à-vis de tous les extraits testés.



HADDOUCHI et *al.*, [257], ont montré que l'activité antimicrobienne de l'H.E de *T. fontanesii* testée *in vitro* sur un ensemble de bactéries et de champignons montre un effet négatif sur la croissance de ces derniers.

En effet, *Enterobacter cloacea* (Jordan 1890) Hormaeche et Edwards 1960, est la plus résistante avec une CMI comprise entre 614,6 et 921,9 µg/mL. Tandis que *B. cereus* et *S. aureus* ont des CMI comprises entre 368,76 et 460,95 µg/mL. *E. coli* et *Acinetobacter baumannii* Bouvet et Grimont, 1986 (Moraxellaceae) ont des CMI plus faibles qui sont comprises entre 184,38 et 368,76 µg/mL.

L'inhibition totale de la croissance de toutes les moisissures étudiées *F. oxysporum*, *Aspergillus flavus* Link, 1809, *R. stolonifer*, *Penicillium sp.* et *A. niger* nécessite une concentration  $\geq 46$  µg/mL. A une concentration de 4,6 µg/mL le pourcentage d'inhibition d'*A. flavus* est le plus important avec 68,88 %.

Les activités antimicrobiennes et antivirales des extraits hexanique, chloroformique, aqueux et l'H.E de *Thymus nummularis* (*Mastichina* Mill) testés *in vitro*. ont été prouvées par l'étude faite par BEKTAS et *al.*, [258]. Ces dernier ont trouvé un très bon pouvoir inhibiteur sur la croissance des microorganismes tels que : *Fusarium*, *Rhysopus* et *Aspergillus* et avec des CMI de 3,125 µg/mL et 50 µg/mL concernant *C. albicans*.

Selon les mêmes auteurs, ce grand pouvoir antimicrobien est dû au thymol qui est le composé majoritaire de cette H.E.

Tandis que les extraits hexanique, chloroformique, aqueux se sont montré moins efficace à l'égard des virus H1N1 et HSV-1, la cytotoxicité de l'extrait aqueux avec une CMI  $> 100$  µg/ML et les deux autres extraits est compris entre 32,92 et 75 µg/ML.

L'étude faite *in vitro* par EL OUALI LALAMI et *al.*, [259], a dévoilé une très bonne activité antibactérienne de l'H.E de *T. vulgaris* qui est dominé par le thymol et l'H.E de *Thymus satureioïdes* représenté par le P-cymène et le thymol comme composés majoritaires à la dose de 1,5 µL/mL sur des bactéries pathogènes de type *Salmonella sp.*

Selon YAKHLEF et *al.*, [260], les extraits brut de l'éther de pétrole, de dichlorométhane, et du méthanol obtenus à partir des feuilles de *T. vulgaris* ont témoigné une forte activité antimicrobienne, sur *E. coli*, *S. aureus* et *Salmonella typhimurium*, même vis-à-vis une souche multi-résistante aux antibiotiques qui est le *P. aeruginosa*. Notons aussi un effet inhibiteur important sur la levure *C. albicans* qui est beaucoup plus important que celui de l'antifongique synthétique, la nystatine.

Mais malgré leurs teneurs très faibles en polyphénols ( $79,27 \pm 6,05 \mu\text{g Eq AG/mg}$ ), les extraits de l'éther de pétrole (apolaires) à différentes concentrations, ont montré une activité antimicrobienne remarquable.

Cependant AMARTI et *al.*, [261], ont précisé que l'H.E de *T. ciliatus* a révélé une forte activité antibactérienne et antifongique. Cette bioactivité est due principalement à la richesse de cette essence en thymol connu pour son efficacité contre les agents microbiens.

SEGVIC-KLARIC [262], ont précisé que l'H.E de *T. vulgaris* et le thymol pur testés *in vitro* sur un ensemble de moisissures ont présenté une activité antimicrobienne très importante. Le thymol a montré une inhibition plus forte sur *Aspergillus*, *Penicillium* et *Rhizopus* en comparaison avec l'H.E qui était moins efficace.

La composition chimique de cette H.E révèle la présence des terpènes comme composés majoritaires, il s'agit du P-cymène avec 36,5 % et du thymol avec 33,0%.

Les CMI sont faibles aussi pour le thymol et l'H.E. Ainsi, elles sont inférieures à  $20 \mu\text{g/mL}$  pour toutes les souches testées.

A la lumière des résultats de l'activité antimicrobienne des E.Vx obtenus à partir des deux plantes étudiées sur les différentes souches testées, on constate que les deux plantes ont des pouvoirs antimicrobiens plus au moins importants, ils sont plus élevés chez les Gram+ et les champignons par rapport aux Gram-.

Les résultats obtenus lors de la présente étude sont soutenus par ceux cités par plusieurs auteurs, qui ont mis l'accent sur la grande efficacité des différents E.Vx contre les bactéries Gram+ par rapport aux bactéries Gram-.

Il est important de mentionner que l'absence de la membrane externe chez les bactéries Gram+ développe une sensibilité aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et la nature de l'extrait testé [30].

En effet, les bactéries Gram- possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, cette résistance est en relation avec la nature de leur double membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes [263].

D'après BRUNETON [16] et PIBIRI [50], les composés chimiques les plus efficaces et à large spectre sont les phénols, qui ont la réputation d'être des molécules antibactériennes du règne végétal. Ils sont assez rares et spécifiques à certaines H.Es comme le thymol et le carvacol notamment les alcools soit l' $\alpha$ -terpineol, le terpinen-4-ol, et le linalol, ainsi que les aldéhydes et les cétones.

SHAN et *al.*, [264], ont signalé que les polyphénols, tels que les tanins et les flavonoïdes sont des substances à propriétés antimicrobiennes importantes.

Ainsi de nombreux flavonoïdes possèdent des activités antifongiques, le plus grand nombre appartient aux flavanones et aux flavines qui ont un effet néfaste sur *C. albicans* et *A. flavus* [265].

Conformément aux travaux de JIMENEZ-GONZALEZ et *al.*, [266] et GRAYER et HARBORNE [267], qui ont rapporté que toutes les classes de flavonoïdes ont un pouvoir antimicrobien, leur caractère lipophile augmente l'activité antimicrobienne, permettant ainsi aux molécules de pénétrer plus facilement à travers la membrane fongique.

#### 6.15. Activité antioxydante des E.Vx des de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Dans cet essai, le radical DPPH<sup>®</sup> fixe un radical H<sup>®</sup> qu'il arrache à l'antioxydant AH. Ainsi, il perd sa couleur violette et son absorbance à 517 nm pour se transformer en DPPH-H de couleur jaunâtre.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été traduite par le pourcentage d'inhibition des radicaux libres dans chaque extrait testé en comparaison avec les

antioxydants synthétiques à savoir BHA, BHT et l'A.A, ainsi que l'estimation de la concentration inhibitrice 50 (IC<sub>50</sub>).

#### 6.15.1. Estimation du pouvoir de piégeage du radical DPPH® des antioxydants synthétiques de référence

Les résultats de l'activité antioxydante des antioxydants synthétiques BHA, BHT et l'A.A sont représentés dans le tableau 6.90.

Tableau 6.840 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHA, BHA et l'A.A

<b>Absorbance</b>	<b>I (%)</b>
<b>BHT</b> : 0,090	93,91
<b>BHA</b> : 0,110	92,56
<b>A.A</b> : 0,118	92,00

Les antioxydants synthétiques possèdent des pouvoirs antioxydants très élevés.

#### 6.15.2. Estimation du pouvoir de piégeage du radical DPPH® des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota*

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH® des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* varie selon l'extrait testé et selon la concentration aussi (Tableau 6.91).

Tableau 6.851 : Variation du pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction des concentrations des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota*

<b>Absorbance Extraits (D.C)</b>	<b>I (%)</b>
<b>H.E</b> : 0,377	65,25
<b>Hexanique</b> : 0,850	42,68
<b>Ether de pétrole</b> : 0,722	51,31
<b>Butanolique</b> : 0,310	79,12
<b>Chloroformique</b> : 0,577	46,32
<b>Acétate d'éthyle</b> : 0,304	71,72
<b>Méthanolique</b> : 0,150	86,04
<b>Ethanolique</b> : 0,220	79,53
<b>Aqueux</b> : 0,490	58,30

Il ressort du tableau présenté ci-dessus, que les extraits alcooliques des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* présentent un bon pouvoir d'inhibition des radicaux libres, ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'H.E. Ce pouvoir est proche aux pouvoirs des antioxydants synthétiques ; BHA, BHT et l'A.A.

Tandis que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux ont un pouvoir d'inhibition moyen des radicaux libres. Ainsi, pour les extraits chloroformique et hexanique, ce pouvoir est faible.

### 6.15.3. Estimation du pouvoir de piégeage du radical DPPH<sup>®</sup> des E.Vx de *T. numidicus*

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH<sup>®</sup> des E.Vx de *T. numidicus* varie selon l'extrait testé et selon la concentration (Tableau 6.92).

Tableau 6.862 : Variation du pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction des concentrations des E.Vx de *T. numidicus*

<b>Absorbance Extraits (T.N)</b>	<b>I (%)</b>
<b>H.E</b> : 0,322	70,32
<b>Hexanique</b> : 0,608	59
<b>Ether de pétrole</b> : 0,470	60
<b>Butanolique</b> : 0,250	78,72
<b>Chloroformique</b> : 0,502	66,17
<b>Acétate d'éthyle</b> : 0,330	71,91
<b>Méthanolique</b> : 0,090	92,31
<b>Ethanolique</b> : 0,087	92,59
<b>Aqueux</b> : 0,54	63,59

D'après les résultats présentés dans ce tableau, on remarque que les extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'H.E obtenus à partir des feuilles de *T. numidicus* ont un bon pouvoir d'inhibition des radicaux libres. Cette activité d'inhibition se rapproche à l'activité des antioxydants synthétiques ; BHA, BHT et l'A.A.

Concernant l'extrait hexanique, l'extrait de l'acétate d'éthyle, l'extrait chloroformique et l'extrait aqueux, on note que ces derniers présentent un pourcentage d'inhibition moyen des radicaux libres.

A la lumière de ces résultats, on constate que les extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle ainsi que l'H.E des deux plantes étudiées présentent un pouvoir d'inhibition des radicaux libres similaire à celui des antioxydants de référence. Cet effet est dû à la richesse des deux plantes en polyphénols et en terpènes comme c'est indiqué dans la littérature.

Cependant, on remarque que les E.Vx de *T. numidicus* présentent un meilleur effet par rapport à celui des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota*, Mais qui reste très proche aussi. Cette activité est en relation directe avec les proportions des métabolites secondaires qui existent dans chaque plante.

#### 6.15.4. Détermination de la concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres (IC<sub>50</sub>) des antioxydants synthétiques

L'IC<sub>50</sub> est un paramètre utilisé pour estimer l'activité antioxydante. Elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'effet antioxydant est très élevé.

Les concentrations étalonnées dans le tableau 6.90, nous ont permis d'évaluer les IC<sub>50</sub> obtenus à partir des équations qui déterminent le pourcentage de réduction en fonction de la concentration des produits en question (Figure 6.68).

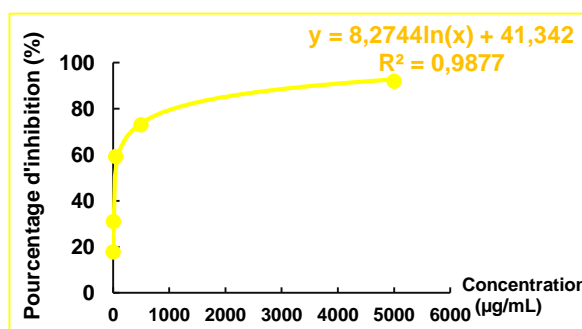
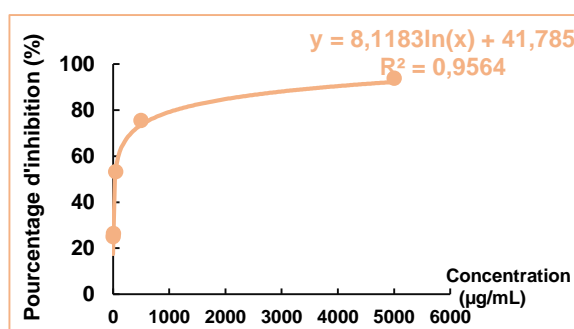
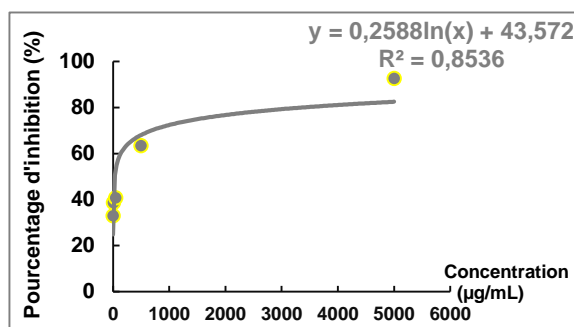


Figure 6.68 : IC<sub>50</sub> des antioxydants synthétiques

#### 6.15.5. Détermination de la concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres (IC<sub>50</sub>) des E.Vx des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota*

Les IC<sub>50</sub> ont été calculées à partir des équations qui déterminent le pourcentage de réduction des radicaux libres (Figure 6.69) en fonction de la concentration des extraits en question présentés dans le tableau 6.91.

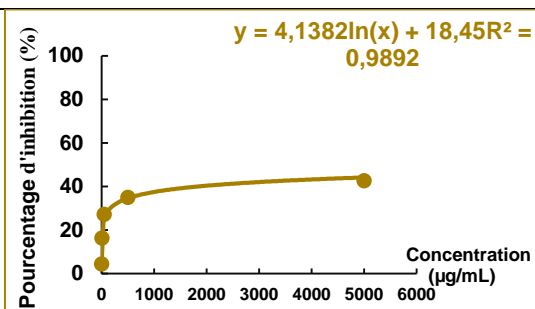


Figure 6.69a : Extrait hexanique

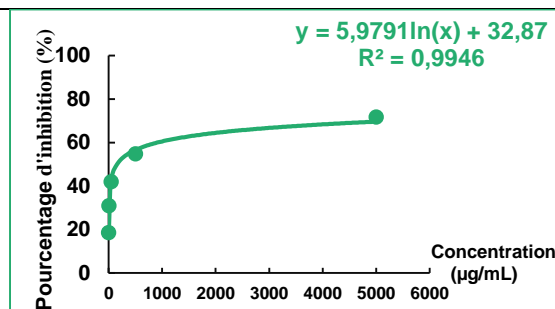


Figure 6.69e : Extrait de l'acétate d'éthyle

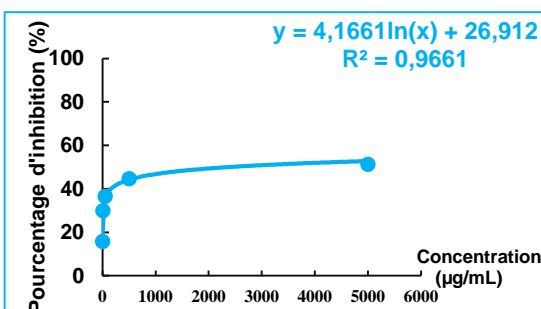


Figure 6.69b : Extrait d'acétate d'éthyle

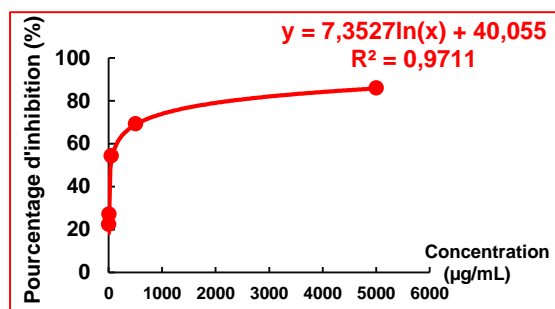


Figure 6.69f : Extrait méthanolique

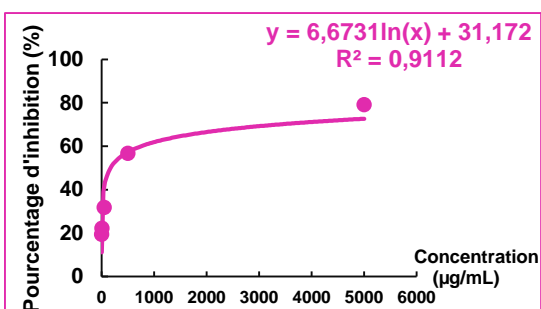


Figure 6.69b : Extrait butanolique

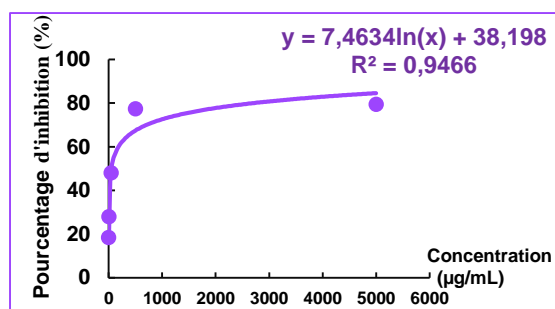


Figure 6.69g : Extrait éthanolique

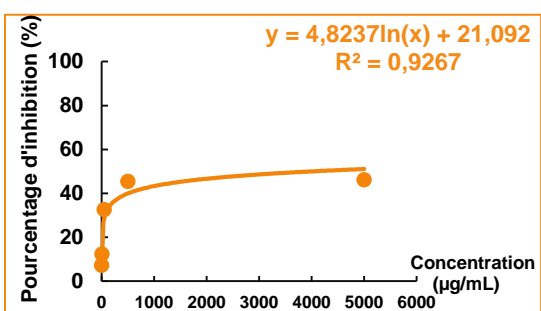


Figure 6.69d : Extrait chloroformique

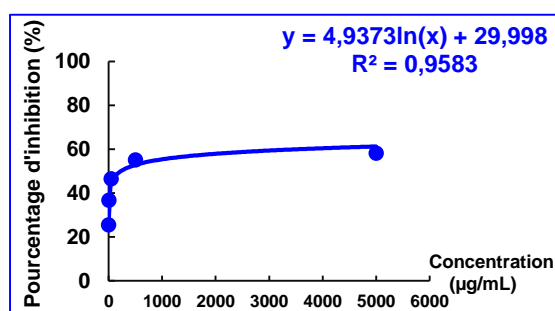


Figure 6.69h : Extrait aqueux

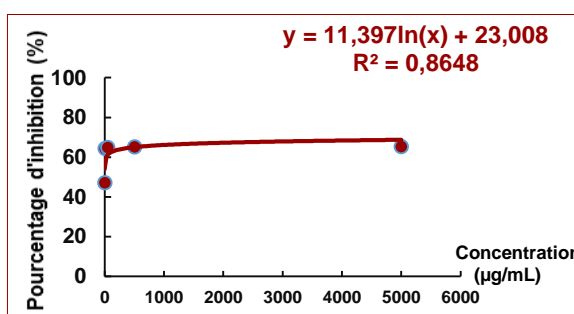


Figure 6.69i : H.E

Figure 6.69 : IC<sub>50</sub> des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota*



A partir des courbes de tendances illustrées dans le graphique 6.69, on a calculé les IC<sub>50</sub> de chaque extrait testé et de chaque produit de référence aussi. Les résultats des différentes IC<sub>50</sub> sont renseignés dans le tableau 6.93.

Tableau 6.873 : IC<sub>50</sub> des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et les antioxydants de référence

<b>Extraits (D.C)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (mg/mL)</b>
<b>BHT</b>	0,01
<b>BHA</b>	0,02
<b>A.A</b>	0,045
<b>Méthanolique</b>	0,3
<b>Ethanolique</b>	0,46
<b>H.E</b>	0,86
<b>Butanolique</b>	1,03
<b>Acétate d'éthyle</b>	1,05
<b>Aqueux</b>	1,40
<b>Ether de pétrole</b>	1,71
<b>Chloroformique</b>	1,80
<b>Hexanique</b>	2,08

Il ressort de ce tableau, que les concentrations inhibitrices IC<sub>50</sub> les plus faibles correspondent à l'extrait méthanolique avec 0,3 mg/mL, à l'extrait éthanolique avec 0,45 mg/mL et à l'H.E avec 0,86 mg/mL. Il s'avère que les extraits méthanolique et éthanoliques possèdent une activité antioxydante qui se traduit par un excellent effet antiradicalaire. Mais elle reste cependant moins efficace que celle du BHA, BHT et de l'A.A.

De ce fait, le pouvoir de piégeage du radical DPPH est très significativement dépendant de la concentration. Le BHT présente le pouvoir de piégeage le plus élevé avec une IC<sub>50</sub> de 0,01 mg/mL par rapport au BHA qui présente une IC<sub>50</sub> de 0,02 mg/mL et à l'A.A avec une IC<sub>50</sub> de 0,045 mg/mL.

A la lumière des résultats obtenus, on a classé les E.Vx testés par rapport aux standards selon leur pouvoir antioxydant par ordre décroissant ; BHT > BHA > AA > Extrait méthanolique > Extrait éthanolique > H.E > Extrait butanolique > Extrait de l'acétate d'éthyle > Extrait aqueux > Extrait de l'éther de pétrole > Extrait chloroformique > Extrait hexanique.

6.15.6. Détermination de la concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres (IC<sub>50</sub>) des E.Vx de *T. numidicus*

Les IC<sub>50</sub> ont été calculées à partir des équations qui déterminent le pourcentage de réduction des radicaux libres (Figure 6.70) en fonction de la concentration des extraits en question présentés dans le tableau 6.92.

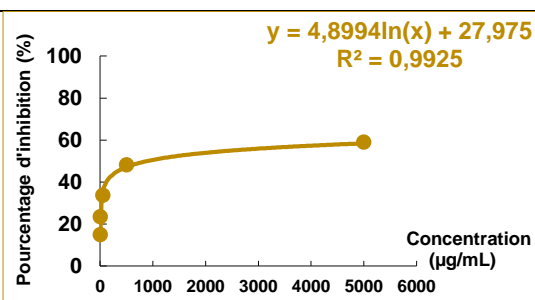


Figure 6.70a : Extrait hexanique

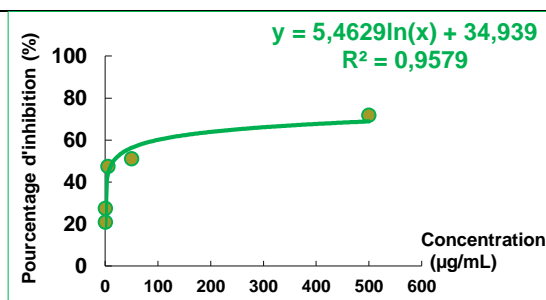


Figure 6.70e : Extrait de l'acétate d'éthyle

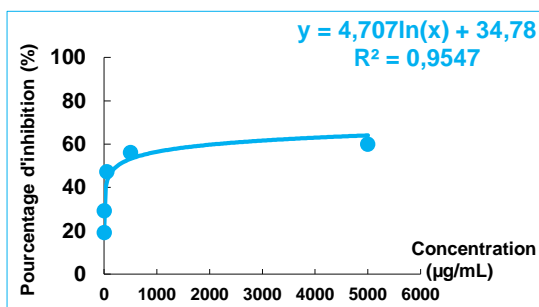


Figure 6.70b : Extrait de l'éther de pétrole

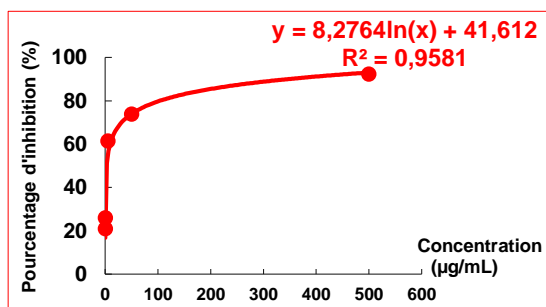


Figure 6.70f : Extrait méthanolique

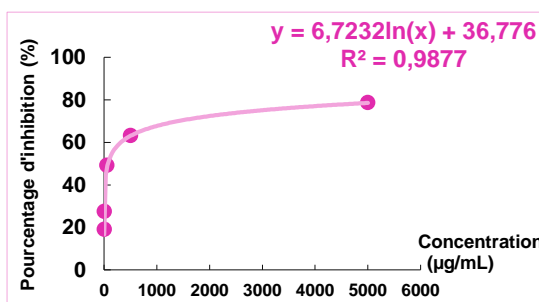


Figure 6.70c : Extrait butanolique

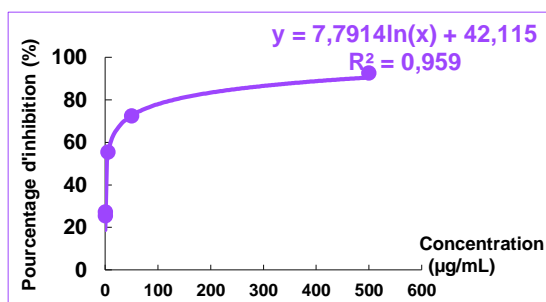


Figure 6.70g : Extrait éthanolique

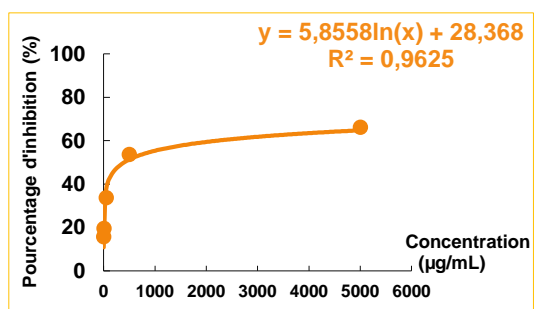


Figure 6.70d : Extrait chloroformique

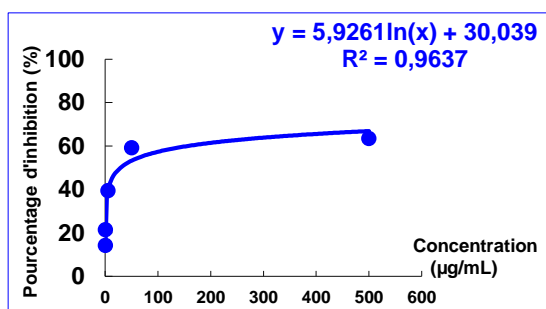


Figure 6.70h : Extrait aqueux

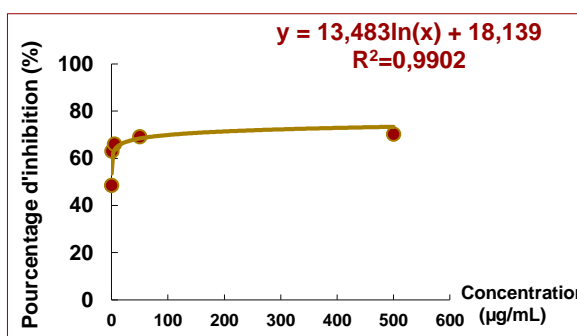


Figure 6.70i : H.E

Figure 6.70 : IC<sub>50</sub> des E.Vx de *T. numidicus*

Les IC<sub>50</sub> ont été calculées à partir des courbes de tendances illustrées dans la figure 6.70. Les résultats sont renseignés dans le tableau 6.94.

Tableau 6.884 : IC<sub>50</sub> des E.Vx de *T. numidicus* et les antioxydants de référence

<b>Extraits (T.N)</b>	<b>IC<sub>50</sub> (mg/mL)</b>
<b>BHT</b>	0,01
<b>BHA</b>	0,02
<b>A.A</b>	0,045
<b>Méthanolique</b>	0,1
<b>Ethanolique</b>	0,1
<b>Butanolique</b>	0,68
<b>H.E</b>	0,86
<b>Acétate d'éthyle</b>	1,01
<b>Ether de pétrole</b>	1,17
<b>Aqueux</b>	1,21
<b>Chloroformique</b>	1,31
<b>Hexanique</b>	1,5

Il ressort de ce tableau, que les concentrations inhibitrices IC<sub>50</sub> les plus faibles correspondent aux extraits éthanolique et méthanolique avec 0,1 mg/mL.

Il s'avère que les extraits méthanolique et éthanolique possèdent une activité antioxydante qui se traduit par un excellent effet antiradicalaire plus efficace que l'activité du BHT, BHA et de l'A.A.

De ce fait, le pouvoir de piégeage du radical DPPH est très significativement dépendant de la concentration. Le BHT présente le pouvoir de piégeage le plus élevé avec une IC<sub>50</sub> de 0,01 mg/mL par rapport au BHA qui présente une IC<sub>50</sub> de 0,02 mg/mL et à l'A.A avec une IC<sub>50</sub> de 0,045 mg/mL. Plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

A la lumière des résultats obtenus, on a classé les extraits par rapport aux standards selon leur pouvoir antioxydant par ordre décroissant à savoir ; BHT > BHA > AA > Extrait méthanolique > Extrait éthanolique > Extrait butanolique > H.E > Extrait de l'acétate d'éthyle > Extrait de l'éther de pétrole > Extrait aqueux > Extrait chloroformique > Extrait hexanique.

6.16. Analyse de la variance de l'activité antioxydante des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Le tableau 6.95 représente l'analyse de la variance avec le test de Student-Newman-Keuls et un intervalle de confiance de ( $P \leq 0,05$ ).

Tableau 6.895 : Analyse de la variance de l'activité antioxydante des E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus*

Facteurs de variation ( $R^2= 0,998$ )	ddl	Moyenne des carrés	P-valeur	Signification ( $P \leq 0,05$ )
Plantes	1,00	1,236	0,562	NS
Extraits	8,00	325,152	< 0,0001	THS
Plantes*Extraits	7,00	1,123	0,016	S

D'après les résultats du tableau 6.95, on constate que les deux plantes étudiées ont le même pouvoir antioxydant, par contre les différents E.Vx, les  $IC_{50}$  leurs pouvoir antioxydant est largement significatif.

L'activité antioxydante des différentes espèces de *Daucus* appartenant à nombreuses régions a été révélée par plusieurs auteurs.

En effet, SHEBABY et *al.*, [74], ont noté que les activités de piégeage des fractions organiques de *D. carota* ssp. *carota* à différentes concentrations par le test de DPPH ont été déterminées et comparées à l'antioxydant standard (Trolox). La fraction de l'éther diéthylique a révélé la plus forte activité de piégeage parmi toutes les fractions testées avec une  $IC_{50}$  de  $0,29 \pm 0,01$  mg/mL. Tandis que la fraction de pentane a le plus faible pouvoir antioxydant avec une  $IC_{50}$  de  $42,5 \pm 0,25$  mg/mL.

Cependant, les résultats de l'étude faite par MOHAMMEDI et *al.*, [106], sur l'activité antioxydante de l'H.E extraite à partir des parties aériennes en pleine floraison de *D. carota* ssp. *carota* ont montré un très fort pouvoir antioxydant avec une  $IC_{50}$  de  $96,4 \pm 1,1$   $\mu$ g/mL, par rapport aux H.Es obtenues à partir des fleurs soit ;  $119,2 \pm 2,3$   $\mu$ g/mL. Les feuilles et les tiges ont une  $IC_{50}$  de  $124,1 \pm 1,2$   $\mu$ g/mL. D'autre part, les H.Es extraites à partir des parties aériennes avant et après la floraison sont les moins efficaces avec une  $IC_{50} > 200$   $\mu$ g/mL.

Les mêmes auteurs ont indiqué que les contrôles positifs à savoir le BHT et le BHA ont montré des valeurs de  $IC_{50}$  plus faibles avec respectivement  $66,0 \pm 1,3$

et  $35,2 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ . Ils ont précisé aussi que les monoterpènes étaient le principal composé antioxydant de cette H.E.

Selon MLADENOVIC et *al.*, [185], une forte corrélation entre le piégeage des radicaux libres et la teneur en composés phénoliques a été rapportée pour de nombreuses plantes. La capacité antioxydante la plus élevée a été trouvée dans les extraits éthanoliques de *D. carota* soit ;  $48,51 \pm 1,18 \text{ Eq } \mu\text{g AA/g}$  d'extrait sec, et une teneur de  $23,19 \pm 0,54 \mu\text{g Eq Ru/g}$  d'extrait sec.

D'après PAVLYUK et *al.*, [187], l'activité antioxydante de deux extraits hydro-éthanoliques à 40 et à 70 % de *D. carota* à différentes concentrations a été déterminée en appliquant la méthode de piégeage des radicaux DPPH. Pour les deux extraits, des valeurs similaires ont été obtenues avec  $86,88 \% \pm 3,02$  pour l'extrait éthanolique à 70 % et  $78,72 \% \pm 3,28$  pour l'extrait éthanolique à 40 %.

Les teneurs importantes en flavonoïdes et en polyphénols dans les deux extraits testés sont à l'origine de cette grande activité antioxydante. En effet, ces métabolites sont représentés par  $92,381 \text{ mg Eq AG/g MVS}$  de polyphénols, et  $15,6 \text{ mg Eq Lu/g MVS}$  de flavonoïdes dans l'extrait hydro-éthanoliques à 70 %, et par  $173,777 \text{ mg Eq AG/g MVS}$  de polyphénols et  $6,65 \text{ mg Eq Lu/g MVS}$  de flavonoïdes dans l'extrait hydro-éthanoliques à 40 %.

EL KOLLI et *al.*, [196], ont également montré que l'H.E de *D. gracilis* a montré des effets antioxydants importants avec une  $\text{IC}_{50}$  de  $0,002 \text{ mg/mL}$  seulement. Cette bonne activité est due aux phénylpropènes avec 35,3 % d'élémicine et aux terpènes avec 26,8 % de géranyl acétate.

Les résultats de l'activité antioxydante par le test de DPPH obtenus par YOUSEFBEYK et *al.*, [251], ont montré que l'extrait méthanolique des fruits de *D. littoralis* Smith ssp. *hyrcanicus* Rech.f est un puissant antioxydant avec une  $\text{IC}_{50}$  de  $145,93 \mu\text{g/mL}$  et un pouvoir du piégeage du radical de  $400 \mu\text{g/mL}$  comparé à l'activité des contrôles standards tels que le Tocophérol ( $40 \mu\text{g/mL}$ ) et le BHA ( $100 \mu\text{g/mL}$ ).

Cet extrait présente le taux le plus important en polyphénols soit ;  $99,1 \pm 0,08$  mg Eq AG/g MVS par rapport aux autres extraits organiques testés, ce qui traduit son haut potentiel antioxydant.

Selon BYSTRICKA et *al.*, [268], l'étude de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques des racines de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* a montré un pouvoir de piégeage des radicaux libres non négligeable avec des IC<sub>50</sub> de  $6,88 \pm 0,92$  à  $9,83 \pm 0,62$  %. Ainsi, les teneurs totales en polyphénols sont importantes avec  $81,25 \pm 13,11$  mg/kg à  $113,69 \pm 11,57$  mg/kg, ce qui montre le rapport entre la grande quantité des polyphénols et le haut pouvoir antioxydant de ces extraits.

L'activité antioxydante des hydrolats des racines de *Daucus muricatus* L., a été démontrée par DIB et *al.*, [269], avec respectivement des valeurs de IC<sub>50</sub> de 50,08 et de 63,05 µg/mL pour les racines et les parties aériennes. Cette activité s'avère plus importante que l'activité de l'antioxydant synthétique BHT (103,98 µg/mL).

Les mêmes auteurs ont précisé que l'importante teneur en monoterpènes oxygénés que contiennent les hydrolats est à l'origine de cette bonne activité de piégeage des radicaux libres.

D'après CHATATIKUN et CHIABCHALARD [270], les extraits de l'éthanol et de l'éther de pétrole des racines de carotte ont montré une activité antioxydante significative. Cependant, les extraits éthanoliques des racines des carottes jeunes ont montré un pouvoir antioxydant important avec  $33,0 \pm 1,1$  mg Vitamine C Eq Antioxydant Capacity/g MVS et les carottes mures ont présenté une valeur de  $7,5 \pm 1,7$  mg Vitamine C Eq Antioxydant Capacity/g MVS. Contrairement aux extraits de l'éther de pétrole qui ont présenté des valeurs de  $5,0 \pm 0,4$  et  $4,5 \pm 0,9$  mg Vitamine C Eq Antioxydant Capacity/g MVS respectivement pour les carottes jeunes et les carottes mures.

D'après les études réalisées par plusieurs auteurs sur l'importance et la richesse des espèces appartenant à la famille des Lamiaceae en métabolites secondaires, notamment les polyphénols et les terpènes. Il est à signaler, que ces molécules bioactives sont dotées d'un grand potentiel antioxydant.

Selon TABTI et *al.*, [73], la comparaison de l'effet de piégeage des radicaux libres des extraits organiques de *T. capitatus* avec l'A.A comme antioxydant standard a montré que tous les extraits testés ont des activités antioxydantes notables. En effet, l'extrait éthanolique présente l'activité la plus élevée à la concentration de 80 g/mL seulement avec 88 % de piégeage et une IC<sub>50</sub> de 31 µg/mL. Mais cette action s'avère plus importante que celle de l'activité de l'A.A standard (86 %). et une IC<sub>50</sub> largement plus faible de 0,95 µg/mL.

La plus faible activité antiradicalaire a été démontrée par l'extrait hexanique et l'H.E avec respectivement 82 et 78 % à une concentration 200 µg/mL. Alors que les IC<sub>50</sub> sont respectivement de 99 et 102 µg/mL.

Affirmant les travaux de BEN EL HADJ ALI et *al.*, [75], qui ont prouvé que les grandes teneurs en polyphénols dans les extraits méthanolique, de l'acétate d'éthyle et de l'éther de pétrole des feuilles de *T. numidicus* de Tunis sont responsables de leur grande capacité antioxydante avec respectivement des IC<sub>50</sub> de 11,06 - 23,51 et 47,31 µg/mL.

Cependant, HAZZIT et *al.*, [77], ont montré que les H.Es de *T. pallescens*, *T. algeriensis* et *T. dreatensis* au stade de floraison révèlent deux nouveaux chémotypes de *T. algeriensis* qui ont un fort potentiel de piégeage des radicaux libres avec respectivement des IC<sub>50</sub> de 2,2 et 3,3 µg/mL. Tandis que l'H.E de *T. pallescens* a présenté des IC<sub>50</sub> plus fortes de 4,8 à 8,63 µg/mL. En effet, cette activité est attribuée aux constituants phénoliques, en particulier le thymol et/ou le carvacrol. Par contre l'action antioxydante de ces deux H.Es est mieux que celle causée par le Mannitol (antioxydant synthétique).

Pour DJEDDI et *al.*, [183], l'antioxydant de synthèse (BHT) a montré une activité antiradicalaire moyennement puissante avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 514,52 mg/L. Cette valeur est supérieure à celles enregistrées avec les extraits hydro-méthanolique et méthanolique avec respectivement 217,03 mg/L, 499,37 mg/L. Tandis que l'extrait de dichlorométhane, l'extrait aqueux et l'H.E ont une faible activité antiradicalaire.

En effet, ZEGHIB et *al.*, [210], ont précisé que malgré la dominance du thymol dans la composition chimique de l'H.E de *T. numidicus* avec 40,40 %. Cette dernière



n'a présenté qu'une légère activité antioxydante avec le taux d'inhibition le plus élevé de 52 % obtenu à la concentration 4 mg/mL. Ce qui a conduit plusieurs auteurs à proposer l'hypothèse des activités biologiques des E.Vx qui sont dues à la synergie de leurs constituants.

Cependant ADRAR et *al.*, [211], ont enregistré une IC<sub>50</sub> très faible de 156,53 µg/mL avec l'H.E de *T. numidicus*. Cette bonne activité est en rapport avec le thymol qui est le composé majoritaire de l'H.E testée.

Selon DANDLEN et *al.*, [271], les H.Es de *Thymus caespititius* L., de *T. camphoratus*, de *T. capitellatus*, de *T. carnosus*, de *T. pulegioides*, de *T. zygis* subsp. *zygis* et *T. zygis* subsp. *sylvestris* récoltés dans différentes régions du Portugal empêchant l'oxydation et piègent les radicaux libres.

Les mêmes auteurs ont souligné que les H.Es extraites à partir des parties aériennes de *T. zygis* subsp. *sylvestris*, sont les plus efficaces pour piéger les radicaux libres avec des IC<sub>50</sub> entre 0,358 et 0,453 mg/mL. Par contre, les H.Es de *T. camphoratus* et *T. caespititius* ont présenté une meilleure capacité de piégeage des radicaux hydroxyles aussi avec une IC<sub>50</sub> < 0,5 mg/mL.

ALBANO et MIGUEL [272], ont montré une importante activité antiradicalaire des hydrolats de *T. camphoratus* soit une IC<sub>50</sub> de 3,5 ± 0,0 µg/mL, *T. carnosus* avec une IC<sub>50</sub> de 2,9 ± 0,0 µg/mL et de *T. mastichina* avec une IC<sub>50</sub> de 4,2 ± 0,0 µg/mL. Le contrôle BHT s'est montré moins efficace avec une IC<sub>50</sub> de 13 ± 1,0 µg/mL.

Ces mêmes auteurs, ont précisé que les mêmes extraits ont présenté des teneurs considérables en polyphénols correspondant respectivement à 19,6 ± 1,6 – 16,6 ± 0,9 et 22,9 ± 2,1 mg/mL. En effet, la richesse des hydrolats en polyphénols, n'a pas influencé le degré de piégeage des radicaux libres.

Contrairement aux travaux cités dans la littérature, Les présents résultats soutiennent l'idée que l'activité de piégeage d'un extrait ne peut être forcément prédite que sur la base de son contenu phénolique total.

Cependant, GIWELI et *al.*, [273], ont démontré une activité antioxydante importante de l'H.E de *T. algeriensis* avec une IC<sub>50</sub> de 0,299 mg/mL. Cette activité est plus élevée que l'activité du thymol pur qui a présenté une IC<sub>50</sub> de 0,403 mg/mL

et l'activité du carvacrol aussi avec une  $IC_{50}$  de 0,105 mg/mL. Mais cette H.E a montré une activité antioxydante inférieure que l'activité du BHA.

Ce pouvoir antioxydant élevé peut être attribué au pourcentage élevé de monoterpènes oxygénés, en particulier le thymol et carvacrol qui représentent 43,19 % de la composition chimique de l'H.E et à la synergie de tous les constituants chimique de cette H.E.

En revanche, les E.Vx obtenus à partir des feuilles de *Thymus laevigatus* (Vahl) ont montré que l'extrait méthanolique a la même activité de piégeage des radicaux libres que l'antioxydant standard l'A.A (14,7  $\mu$ g/mL). Tandis que l'extrait de dichlorométhane a une  $IC_{50}$  moyenne et l'extrait aqueux a une  $IC_{50}$  très élevée > 1000  $\mu$ g/mL [274].

Concernant les travaux de BALLESTER et *al.*, [275], sur l'activité antioxydante des H.Es obtenues à partir de *T. zygis*, de *T. mastichina*, de *T. capitatus* et de *T. vulgaris* ; ces dernières ont dévoilé un pouvoir important de piégeage des radicaux libres. Il est représenté principalement par l'H.E de *T. capitatus* avec une  $IC_{50}$  de 0,60 mg/mL, suivi par l'H.E de *T. zygis*, qui a montré une  $IC_{50}$  de 0,90 mg/mL Tandis que les H.Es de *T. mastichina*, de *T. vulgaris* et l'ABTS (contrôle positif) ont démontré des  $IC_{50}$  intéressantes mais plus élevées.

Selon KINDL et *al.*, [276], l'efficacité antioxydante des extraits éthanoliques de six espèces de *Thymus* cultivées à savoir : *T. longicaulis*, *T. praecox* ssp. *polytrichus*, *T. pulegioides*, *T. serpyllum* ssp. *serpyllum*, *T. striatus* et *T. vulgaris* a été évaluée en comparaison avec l'acide rosmarinique, la lutéoline, et le Trolox.

Tous les extraits de *Thymus* testés possédaient des  $IC_{50}$  de 3 à 6  $\mu$ g/mL et des taux de piégeage des radicaux libres supérieurs à 50 % à la concentration de 6,5  $\mu$ g/mL et des taux supérieurs à 80 % à la concentration 12,5 de  $\mu$ g/mL seulement. De même, les contrôles positifs ont un pouvoir de piégeage similaire aux extraits testés aux concentrations 12,5 et 25  $\mu$ g/mL. Mais avec des  $IC_{50}$  moins importantes que celles des extraits testés, elles sont de 0,66  $\mu$ g/mL pour l'acide rosmarinique, 0,73  $\mu$ g/mL pour la luteoline et 1,67  $\mu$ g/mL pour le Trolox.

Les activités antioxydantes des extraits du méthanol et de l'éther éthylique obtenus à partir des parties aériennes de *T. zygis*, pendant et après la floraison, ont été évaluées par le test de (DPPH). Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques qui sont riches en composés phénoliques possèdent le plus pouvoir de réduction des radicaux le plus élevé avec une IC<sub>50</sub> de 9 µg/mL. Cependant, la fraction de l'éther éthylique a une réaction moins importante avec une IC<sub>50</sub> de 66 µg/mL pour la plante en fleurs et une IC<sub>50</sub> de 207 µg/mL pour la plante sans fleurs [277].

Durant cette étude, on a conclu que les différents E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* et de *T. numidicus* testés possèdent des activités antioxydantes importantes, le plus grand potentiel de piégeage des radicaux libres est obtenu avec les extraits alcooliques ainsi que les H.Es.

Cette capacité est attribuée en grande partie aux polyphénols, qui ont un degré élevé de liposolubilité dans les fractions alcooliques et aux terpènes présents dans les H.E.

De nombreuses études sur les activités antioxydantes ont montré les pouvoirs antioxydant des H.Es, ils ont prouvé que ces propriétés étaient liées à leur composition chimique. En effet, cette activité n'est pas attribuée à un seul composé mais plutôt à la synergie entre les différents constituants.

Ainsi, les phénols et les flavonoïdes jouent un double rôle dans la réduction de la vitesse d'oxydation, car ils participent aux piégeages des radicaux libres.

En effet, les résultats obtenus au cours de cette étude confirment l'importance du potentiel biologique des extraits organiques et aqueux obtenus à partir des ombelles florales de *D. carota* ssp. *carota* et des feuilles de *T. numidicus* à savoir ; insecticide, antimicrobien et antioxydant dans les différents E.Vx obtenus à partir des deux plantes étudiées qui peuvent être une source de molécules bioactives par excellence.

# **CONCLUSION**

---

## CONCLUSION

Depuis plusieurs décennies, le monde a été tributaire des produits chimiques de synthèse pour combattre les bioagresseurs, et les maladies. Il faut noter que leur efficacité est certes indéniable du fait qu'ils possèdent des effets positifs sur les des êtres vivants, la santé humaine, animale et végétale aussi.

Malgré leurs avantages, ils causent de sérieux problèmes environnementaux, de sécurité alimentaire et de santé surtout. En revanche, actuellement les préoccupations des chercheurs se sont traduites par des actions politiques à travers des restrictions et des limitations de l'utilisation de ces produits afin de minimiser leurs dégâts.

Face à ce constat, pour mener une vie saine et durable, la gestion des pathogènes humains et végétaux se dirige vers la recherche des procédés alternatifs et garantis. Ainsi, les produits à base de microorganismes ou de plantes constituent une voie de recherche intéressante et prometteuse vu les avantages qu'elle présente.

C'est dans ce contexte que s'est inscrit l'objectif de la présente étude qui vise d'évaluer les potentialités biologiques des E.Vx obtenus à partir de deux plantes à savoir ; *D. carota* ssp. *carota* et *T. numidicus*, sur la mortalité des larves de *T. absoluta* testés *in vitro* d'une part, et sur des micro-pathogènes des êtres vivants et aussi l'activité antioxydante d'autre part. Ce travail a été complété par les tests phytochimiques ou encore l'identification des constituants des plantes testées.

Concernant les ombelles de *D. carota* ssp. *carota*, l'identification chimique des métabolites secondaires par la méthode du screening phytochimique a révélé la présence de plusieurs familles chimiques, dont les polyphénols en grande quantité qui sont représentés principalement par les flavonoïdes et es anthocyanes.

L'extraction aqueuse a présenté le rendement le plus important avec un taux de 29,71 %. Elle est suivie par l'extraction aux alcools les plus polaires à savoir 29,26 % pour le méthanol, 26,62 % pour l'éthanol, et ensuite 7,53 % pour le butanol. Tandis que, les autres extraits révèlent un taux faible en substances extractives.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes montre que l'extrait hexanique, l'extrait de l'éther de pétrole, l'extrait chloroformique, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux possèdent des teneurs faibles par rapport aux extraits alcooliques.

L'extrait méthanolique contient la teneur la plus importante en polyphénols totaux avec  $276 \pm 2,67$  mg Eq AG/g MVS et en flavonoïdes soit  $114,85 \pm 3,57$  mg Eq Qu/g MVS. Tandis que l'extrait éthanolique comprend  $223,71 \pm 2,9$  mg Eq AG/g MVS de polyphénols et  $80,50 \pm 2,49$  mg Eq Qu/g MVS de flavonoïdes. Et l'extrait butanolique renferme  $78,3 \pm 2,25$  mg Eq AG/g MVS de polyphénols et  $47,76 \pm 1,03$  mg Eq Qu/g MVS de flavonoïdes.

Ces extraits alcooliques contiennent des teneurs importantes en flavonols de type rutine qui varient entre 16,20 et 27,80 %. L'acide phénolique de type acide gallique est moins fréquent que la rutine. Aussi il est présent dans les extraits de l'éther de pétrole, de chloroforme, du butanol, de l'acétate d'éthyle, de l'éthanol ainsi que l'extrait aqueux mais avec des taux très faibles qui sont respectivement de l'ordre de 1,72 - 0,94 - 0,38 - 3,61 - 5,24 - 2,57 et 1,74 %.

Par ailleurs, l'analyse des différents extraits obtenus a démontré la présence du quercétine qui est représentée uniquement dans l'extrait de l'acétate d'éthyle avec un taux très faible de 1,03 %.

Le rendement en H.E est de 3,65 % après 3 h d'extraction. L'analyse par CG/SM de cette H.E nous a permis d'identifier 47 composés, soit un total de 98,33 %, dont la dominance des sesquiterpènes est interprétée par 53,4 % du total des composés identifiés, avec 10,38 % de carotol et le 9 % de germacène D.

L'étude anatomique des feuilles et des tiges de *D. carota* ssp. *carota* révèle la présence des canaux sécréteurs qui émettent l'H.E.

Les effets insecticides des différents E.Vx de *D. carota* ssp. *carota* sur le développement larvaire de *T. absoluta* montrent que les extraits alcooliques agissent d'une manière très efficace sur les quatre stades larvaires avec des DL<sub>50</sub> et des TL<sub>50</sub> très réduits.

Concernant les extraits alcooliques à la faible dose de 2,5 mg/mL, on a enregistré des taux de mortalité important entre 66,66 et 100 % après 24 h d'application seulement pour la (L1) et des taux de mortalité de 76,18 à 100 % après 48 h seulement.

Tous les autres extraits exercent une bonne action insecticide à l'égard de *T. absoluta* à la dose de 10 mg/mL après 24 h seulement.

L'H.E a un effet biocide important à la dose 400 µL/L et après 24 h seulement avec 73,92 % de mortalité.

Les (L2, L3 et L4) sont aussi sensibles envers les extraits alcooliques surtout avec des taux de mortalité importants. Après 24 h de traitement, il est entre 65 et 70 % à la faible dose de 2,5 mg/mL. A la dose de 5 mg/mL, ce taux devient plus important avec des pourcentages de mortalité qui oscillent entre 86 et 100 %. A la concentration de 10 mg/mL, les taux de mortalité enregistrés varient entre 89 et 100 %.

Pour ce qui est de l'H.E, les taux de mortalité dépassent 63 % à la dose de 400 µL/L après 72 h de traitement.

En effet, les H.E ont un effet remarquable sur les larves de *T. absoluta*, mais elles restent moins efficaces que les extraits alcooliques même à forte dose, les DL<sub>50</sub> et les TL<sub>50</sub> restent toujours faibles.

Par ailleurs, la dose de l'extrait testé ainsi que le temps d'exposition sont en relation directe avec les taux de mortalité. Plus on augmente la dose, plus l'extrait est efficace. Ainsi, plus le temps est étalé plus le traitement est efficace.

Les larves les plus âgées sont plus résistantes que les larves les moins âgées à l'égard des différents extraits testés.

Les différents extraits testés ont présenté une faible à moyenne activité antimicrobienne à l'égard des bactéries Gram+ ainsi qu'aux champignons testés. Ces E.Vx sont peu actifs vis-à-vis des bactéries Gram-.

Les extraits alcooliques ainsi que l'H.E testés sont très efficaces à l'encontre du développement des souches de champignons phytopathogènes testées avec des pourcentages d'inhibition de la croissance importants qui varient entre 61,67 et 80,56%.

D'après les résultats obtenus, on constate que ces extraits butanolique, éthanolique et méthanolique présentent un bon pouvoir d'inhibition des radicaux libres, ainsi que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'huile essentielle de *D. carota* ssp. *carota*. Ce pouvoir est proche à celui des antioxydants synthétique ; l'A.A, le BHA, et le BHT. Il est respectivement de 79,12 - 79,53 - 86,04 – 92 - 92,56 - 93,91 %.

Tandis que l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux ont un pouvoir d'inhibition moyen des radicaux libres, et pour les extraits chloroformique et hexanique ce pouvoir est faible.

Concernant les feuilles de *T. numidicus*, le criblage phytochimique montre que ces dernières renferment un taux important de coumarines, glucosides, flavonoïdes, tanins galliques ainsi que des terpènes.

Ainsi, le taux le plus élevé en métabolites secondaires est obtenu avec l'extrait aqueux avec 63,82 %. Ensuite l'extrait de l'éthanol, du méthanol et du butanol avec respectivement des taux moins importants de 55,13 - 40,25 et 23,01 %. Par contre, les autres extraits ont présenté des taux relativement faibles.

Par ailleurs, le pourcentage des polyphénols totaux obtenus avec l'extrait méthanolique est le plus élevé avec  $280,25 \pm 3,87$  mg Eq AG/g MVS. Ensuite l'extrait éthanolique avec un taux de  $273,21 \pm 3,37$  mg Eq AG/g MVS. L'extrait butanolique avec  $92,32 \pm 2,97$  mg Eq AG/g MVS. Le taux de flavonoïdes est proportionnel avec le taux des polyphénols, il est respectivement de 130,26 - 100,83 - 55,78 - 42,25 -EQu/g MVS.

Le rendement en H.E est de 2,61 %. L'analyse chromatographique de cette huile par CG/MS a permis de déterminer 43 composés, représentés par un total



de 99,04 %, dominés par 96 % de monoterpènes qui sont représentés par 40,14 % de thymol, suivi par 25,01 % de linalool et 3,04 % de sesquiterpènes seulement.

Et l'analyse par HPLC a montré la présence de 23,523 % de rutine dans l'extrait éthanolique et 26,42 % dans l'extrait méthanolique, 23,88 % de quercétine dans l'extrait éthanolique, 16,71 % dans l'extrait butanolique et 26,42 % et 11,68 % dans l'extrait méthanolique.

D'après l'étude anatomique des feuilles et des tiges de *T. numidicus*, les organes végétaux responsables de la production des H.E sont des polis sécréteurs.

L'activité insecticide des E.Vx sur les différents stades larvaires de *T. absoluta* ont montré que les extraits alcooliques et l'extrait de l'acétate d'éthyle sont très efficaces à toutes les doses testées (2,5 mg/mL) et pendant des durées d'exposition très faibles aussi après 24 h seulement.

Tandis que, les H.Es sont moins efficaces que les extraits alcooliques même à forte dose. Mais, les DL<sub>50</sub> et les TL<sub>50</sub> sont toujours faibles. Cependant ces bio-essais restent plus efficaces que les deux insecticides chimiques testées.

Après avoir exposé les larves de *T. absoluta* aux différents stades de développement aux extraits organiques et aqueux à des doses croissantes, on a constaté que la dose de l'extrait testé ainsi que le temps d'exposition sont en relation directe avec le taux de mortalité.

Plus on augmente la dose, plus l'extrait est efficace. Ainsi, plus le temps est étalé plus le traitement est efficace.

L'évaluation de l'activité larvicide *in-vitro* de ces extraits a permis d'enregistrer une très bonne activité de 100 % des extraits alcooliques à la dose 10 mg/mL après 24 et 48 h d'exposition seulement pour les quatre stades larvaires. Tandis que l'extrait hexanique à la dose 10 mg/mL et après 72 h d'exposition a présenté une très bonne activité de 90,47 % pour la (L1), une toxicité moyenne de 62,5 % pour la (L2), et une faible toxicité pour les L3 et L4. Les deux larvicides chimiques ont donné un taux de mortalité inférieur à 70 %.

Par ailleurs, les (L1) sont plus sensibles que les autres larves à l'encontre des différents E.Vx testés.

Les bactéries Gram<sup>+</sup> à savoir *B. subtilis* et *S. aureus*, ainsi que les deux levures *C. albicans* et *S. cerevisiae*, sont plus sensibles aux extraits testés que les bactéries Gram<sup>-</sup>. Des zones d'inhibition faibles ont été observées autour d'*E. coli*, de *P. aeruginosa* et de *P. fluorescens*. Ces bactéries Gram<sup>-</sup> possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antimicrobienne des E.Vx de *T. numidicus* qui est considérée comme peu inhibitrice.

Les souches phytopathogènes testées se sont montrées très sensibles à l'égard des extraits alcooliques et l'H.E de *T. numidicus* aussi.

Il est à noter que les valeurs des CMI obtenues sont assez faibles. Elles se situent entre 2 et 0,125 %. Ceci montre un large spectre d'activité des extraits testés à l'égard de tous ces pathogènes.

D'après les résultats présentés, on remarque que les extraits alcooliques, l'extrait de l'acétate d'éthyle et l'H.E obtenus à partir des feuilles de *T. numidicus* ont un bon pouvoir d'inhibition des radicaux libres. Cette activité d'inhibition se rapproche à l'activité des antioxydants synthétiques à savoir le BHA, le BHT et l'A.A.

Les extraits alcooliques testés ainsi que l'H.E des deux plantes testées sont dotés de plusieurs pouvoirs biologiques considérables et semblables aussi. Ceux-ci sont dus essentiellement à leur richesse en métabolites secondaires tels que les polyphénols et les monoterpènes, qui sont connus par leurs importantes activités ; antimicrobienne, antioxydante et insecticide aussi.

A cet effet, il serait souhaitable de tester ces fractions *in vitro*, afin d'évaluer de façon précise les molécules des composés impliqués dans la toxicité et déterminer leur mécanisme d'action. En effet, ces composés peuvent avoir l'opportunité d'être utilisés comme bioproduits ou bien comme matière active dans la composition des traitements naturels

Des investigations sont nécessaires et doivent être complétées par d'autres travaux pour montrer l'efficacité de ces E.Vx *in vivo* et pour déterminer les

périodes ainsi que les doses d'application, et ce afin de définir l'action des paramètres biotiques et leurs synergies en même temps.

D'autre part, des essais dans les conditions naturelles sont souhaitables pour analyser l'impact économique de ces espèces et évaluer leur gestion en incluant des méthodes respectueuses de l'environnement.

# **APPENDICES**

---

## Appendice A : Liste des abréviations

A.E	: Acétate d'éthyle
ATCC	: American Type Culture Collection
But	: Butanol
Chl	: Chloroforme
CN	: Carbenicilline
C	: Concentration
Ca	: Catéchine
D	: Dose
D.C	: <i>Daucus carota</i> ssp. <i>carota</i>
ddl	: Degrés de liberté
E	: Erythromycine
E.M.Ls	: Extraits des molécules lourdes
E.Vx	: Extraits végétaux
E.P	: Ether de pétrole
Eth	: Ethanol
EXT	: Extrait
F	: Fluconazole
H E	: Huile essentielle
Hex	: Hexane
HS	: Hautement significatif
L1	: Larve du premier stade de développement
L2	: Larve du deuxième stade de développement
L3	: Larve du troisième stade de développement
L4	: Larve du quatrième stade de développement
Lu	: Lutéine
m/z	: Masse/charge
Met	: Méthanol
MO.C.LA	: Mode opératoire. Centre de Recherche et de Développement SAIDAL. Laboratoire de Chimie Analytique
MO.C.LM	: Mode opératoire. Centre de Recherche et de Développement SAIDAL. Laboratoire de Microbiologie

MO.C.SN.	: Mode Opérateur. Centre de Recherche et de Développement SAIDAL. Laboratoire des Substances Naturelles
MU.C.SN.	: Mode d'utilisation. Centre de Recherche et de Développement. SAIDAL. Laboratoire des Substances Naturelles
MV	: Matière végétale
MVF	: Matière végétale fraîche
MVS	: Matière végétale sèche
nm	: Nano mètre
NS	: Non significatif
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
Ru	: Rutine
S	: Significatif
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
THS	: Très hautement significatif
TL	: Temps létal
T.N	: <i>Thymus numidicus</i>
UFC/mL	: Unité Formant Colonie
UV	: Ultra-violet

## Appendice B : Matériel non biologique

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solutions	Milieux de cultures
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Autoclave</li> <li>- Balance analytique</li> <li>- Bain-marie</li> <li>- Bec benzène</li> <li>- Chauffe ballon</li> <li>- CG/MS</li> <li>- Dispositif d'extraction par hydrodistillation</li> <li>- Dispositif DEAN et STARK</li> <li>- Dispositif de SOXHLET</li> <li>- Etuves</li> <li>- Extracteur pilote</li> <li>- Hotte</li> <li>- HPLC</li> <li>- Loupe binoculaire</li> <li>- Microscope photonique</li> <li>- Moulin électrique</li> <li>- Pycnomètre</li> <li>- Plaque chauffante</li> <li>- Polarimètre</li> <li>- Poupinel a 180 °C</li> <li>- Réfractomètre</li> <li>- Réfrigérant à eau</li> <li>- Rota vapeur rotatif</li> <li>- Spectrophotomètre ultra-violet</li> <li>- Vortex</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ampoule à décanter</li> <li>- Anse</li> <li>- Ballons à col rodé</li> <li>- Boîtes de pétries</li> <li>- Barreaux magnétiques</li> <li>- Boîte de Pétri</li> <li>- Bêchers</li> <li>- Ciseaux</li> <li>- Disque d'antibiogramme vierge</li> <li>- Disques d'antibiotiques de référence</li> <li>- Embouts en plastique</li> <li>- Entonnoir</li> <li>- Eprouvettes graduées</li> <li>- Erlenmeyer</li> <li>- Fioles jaugée</li> <li>- Flacon en verre ombré</li> <li>- La gaze</li> <li>- Lames à rasoir neuves</li> <li>- Lames et lamelles</li> <li>- Micropipettes</li> <li>- Papier aluminium</li> <li>- Papiers filtres</li> <li>- passoire</li> <li>- Pied à coulisse</li> <li>- Pince</li> <li>- Pipette graduée</li> <li>- Pipettes Pasteur</li> <li>- Pissette à eau distillée</li> <li>- Portoir de tubes</li> <li>- Sachets en papier kraft</li> <li>- Seringue</li> <li>- Spatules</li> <li>- Tubes à essai stériles</li> <li>- Tubes à essai stériles</li> <li>- Vials</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acétate d'éthyle</li> <li>- Acétate de plomb</li> <li>- Acétate de potassium</li> <li>- Acétate de sodium</li> <li>- Acétone</li> <li>- Acétonitrile</li> <li>- Acide ascorbique</li> <li>- Acide acétique</li> <li>- Acide chlorhydrique</li> <li>- Acide gallique</li> <li>- Acide sulfurique</li> <li>- Alcanes</li> <li>- Alcool iso-amylque</li> <li>- Ammoniaque</li> <li>- Butanol</li> <li>- BHA</li> <li>- BHT</li> <li>- Carbonate de sodium</li> <li>- Chloroforme</li> <li>- Chlorure d'aluminium</li> <li>- Chlorure de fer</li> <li>- Chlorure de sodium</li> <li>- Copeau de magnésium</li> <li>- Coragen®</li> <li>- DMSO</li> <li>- DPPH®</li> <li>- Eau de javel</li> <li>- Eau distillée</li> <li>- Eau oxygénée</li> <li>- Ethanol</li> <li>- Ether di éthylique</li> <li>- Ether de pétrole</li> <li>- Eau physiologique</li> <li>- Folin-Ciocalteu</li> <li>- Fuchsine</li> <li>- Glycérine</li> <li>- Hexane</li> <li>- Hydroxyde de potassium</li> <li>- Hydroxyde de sodium</li> <li>- Iodure de potassium</li> <li>- Lugol</li> <li>- Mannitol</li> <li>- Méthanol</li> <li>- Moelle de sureau</li> <li>- Nitrate de Bismutn</li> <li>- Parafilm</li> <li>- Phénolphtaléine</li> <li>- Propanol</li> <li>- Quercétine</li> <li>- Réactif de Dragendroff</li> <li>- Réactif de Stiansy</li> <li>- Rouge Congo</li> <li>- Rutine hydrate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gélose nutritive</li> <li>- Sabouraud</li> <li>- Muller-Hinton</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"><li>- Sulfate de sodium anhydre</li><li>- Toluène</li><li>- Trichlorure d'aluminium</li><li>- Tween</li><li>- Vert de méthyle</li><li>- Voliam Targo®</li><li>- violet de gentiane</li><li>- Zinc métallique</li></ul>	
--	--	--	--



### Appendice C : Insecticides chimiques

Insecticides chimiques	Identification	Composition chimique et Concentrations	Mode d'action
<p><b>Coragen® 20</b></p>	<p>- Il est sous forme de Suspension concentrée, très efficace sur un grand nombre d'insectes broyeurs ou foreurs, résistants ou non aux solutions existantes. Il maîtrise les insectes, de l'éclosion aux stades adultes de développement, mais il est sécuritaire pour les abeilles et les insectes utiles.</p>	<p>- Il fait partie de la famille des diamides. Il est composé de 20 % de RynaXypyr® (chlorantraniliprole-IRAC groupe 28)</p> <p>- Le taux d'application du Coragen® se situe entre 101 et 202 mL/Ha, selon le type de culture, les insectes nuisibles à maîtriser et la situation agronomique.</p> <p>- Pour le traitement contre Tuta absoluta on doit utiliser une dose de Mineuse (<i>Tuta absoluta</i>) Tomate 150 mL/Ha</p>	<p>- La matière active se fixe aux récepteurs à ryanodine des insectes pour épuiser les réserves en calcium provoquant ainsi la paralysie des insectes puis leur mort faute de pouvoir s'alimenter. La mort de l'insecte peut être observée 2 à 4 jours après traitement.</p>
<p><b>Voliam Targo® 0,63 Abamectine</b></p>	<p>- Cet insecticide est sous forme de suspension concentrée, efficace notamment sur les lépidoptères des cultures fruitières et légumières, contre l'eudémis et la cochylis sur la vigne, contre la pyrale du maïs et contre le doryphore sur pomme de terre, tomate et aubergine.</p>	<p>- Il fait partie de la famille des diamides. Il est composé de 18,5 % de RynaXypyr® (chlorantraniliprole-IRAC groupe 28)</p> <p>- Le taux d'application contre la mineuse de la tomate (<i>Tuta absoluta</i>) est de 0,3 - 0,45 L/Ha.</p>	<p>- Consiste à stimuler les muscles des insectes en déclenchant l'activation des récepteurs de ryanodine.</p> <p>- Cette altération de la régulation musculaire épuise les réserves de calcium présent dans les fibres musculaires et conduit à la paralysie, puis à la mort de l'insecte.</p>

### Appendice D : Milieux de cultures

Milieux de culture	Composition chimique	Quantités
<b>Gélose nutritive</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Extrait de viande</li> <li>- Extrait de la levure</li> <li>- Chlorure de Sodium</li> <li>- Agar-agar</li> <li>- Eau distillée</li> <li>- Ajuster le pH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 g</li> <li>- 2 g</li> <li>- 5 g</li> <li>- 12 g</li> <li>- 7 mL</li> <li>- 7,4</li> </ul>
<b>Milieu gélose Mueller Hinton</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Infusion de viande</li> <li>- Hydrolysate de caséine</li> <li>- Amidon de maïs</li> <li>- Eau distillée (QSP)</li> <li>- Ajuster le pH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 g</li> <li>- 17,5 g</li> <li>- 1,5 g</li> <li>- 10000 mL</li> <li>- 7,4</li> </ul>
<b>Milieu gélose de Sabouraud</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peptone de viande</li> <li>- Pepton de caséine</li> <li>- D glucose</li> <li>- Agar-agar</li> <li>- Eau distillée (QSP)</li> <li>- Ajuster le pH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 50 g</li> <li>- 5 g</li> <li>- 40 g</li> <li>- 15 g</li> <li>- 1000 mL</li> <li>- 6</li> </ul>

### Appendice E : Souches microbiennes

Microorganismes	Famille	Germes testés	Morphologie et dégâts
Bactéries Gram-	<b>Enterobacteriaceae</b>	<i>Escherichia coli</i>	C'est une bactérie de forme bacille radio résistant, hôte commun de la microflore intestinale de l'Homme et des animaux homéothermes. Elle est à l'origine de nombreuses diarrhées, dysenteries et des
	<b>Pseudomonadaceae</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	C'est une bactérie de forme bacille aérobie, très mobile grâce à un flagelle, responsable des crampes abdominales, des troubles digestives, des infections cutanées, et des infections nosocomiales C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement, elle est considérée comme le plus redoutable chez les humains et les animaux aussi.
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	C'est une bactérie, aérobies stricts de forme bacille. Elle est mobile grâce à ses multiples flagelles. De plus, elle tient la deuxième partie de son nom (fluorescens) du fait qu'elle est fluorescente à la lumière. Cette fluorescence est due à la production d'un pigment appelé fluorescéine. Elle est responsable de la contamination des produits alimentaires notamment les
	<b>Enterobacteriaceae</b>	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	C'est une bactérie phytopathogène anaérobie facultative, ayant une forme de bâtonnet, munie de flagelles péritriches. Elle est responsable de la pourriture molle et de la nécrose des organes végétaux de diverses cultures.
Bactéries Gram+	<b>Bacillaceae</b>	<i>Bacillus subtilis</i>	C'est une bactérie mobile ou immobile, aérobie stricte, sporulés, sous forme de bacilles Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'Homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer des intoxications alimentaires.
	<b>Staphylococcaceae</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ce sont des bactéries groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin (Cocci), immobiles, non sporulés est commensal de l'homme, aussi responsables d'infections nosocomiales et des intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques est parfois un grand problème pour le traitement des patients

<b>Levures</b>	<b>Saccharomycetaceae</b>	<i>Candida albicans</i>	C'est la levure la plus importante et la plus connue du genre <i>Candida</i> , de couleur blanche vivant à l'état naturel sur la peau, dans la bouche et le tube digestif de l'être humain avec des cellules souvent rondes ou ovales. C'est un organisme saprophyte aérobie qui provoque des infections fongiques (candidiase ou condidose) essentiellement au niveau des muqueuses digestives et gynécologique.
		<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	Appelée communément levure de bière ou bien levure de boulanger, elle se présente sous forme de cellules isolées, ovoïdes à arrondie. Elle est rarement pathogène sauf dans le cas de son passage par voie digestive vers les vaisseaux peut provoquer des fongémies.
<b>Moisissures</b>	<b>Trichocomaceae</b>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Il est de forme filamenteuse, il est responsable de plusieurs infections sévères chez les humains ou chez les oiseaux en provoquant la broncho-pulmonaire, ainsi que l'aspergillome.
		<i>Aspergillus niger</i>	Appelé aspergille noir, c'est un champignon filamenteux considéré comme une moisissure contaminant omniprésente est qui est habituellement inoffensif. Mais dans des circonstances spéciales et rares, elle peut être toxique et pathogène car responsable de mycoses pulmonaires chez l'Homme et les oiseaux.
<b>Champignons phyopathogènes</b>	<b>Ceratobasidiaceae</b>	<i>Fusarium sp.</i>	Il est caractérisé par la présence de macriconides (Spores) susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes, provoquant des maladies appelées fusarioses. Certaines espèces sont impliquées dans des infections opportunistes chez l'homme et chez l'animal.
	<b>Nectriaceae</b>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Appelé rhizoctone noir, c'est un pathogène sur pomme de terre mais également sur d'autres espèces cultivées telles le maïs, la betterave, la carotte, les crucifères et céréales, à différents stades du cycle de végétation

## Appendice F : Préparation des différentes solutions utilisées

Solutions	Préparation	Quantités
- Acide acétique 1 %	- Acide acétique - Eau distillée (QSP)	- 1 mL - 100 mL
- Acide chlorhydrique 0,5 M/L	- Acide chlorhydrique à 37% - Eau R	- 47 mL - Complétez à 1000 mL
- Acide chlorhydrique 0,1 N	- Acide chlorhydrique à 37% - Eau distillée (QSP)	- 0,883 mL - 100 mL
- Acide chlorhydrique 2 N	- Acide chlorhydrique à 37% - Eau distillée (QSP)	- 16,66 mL - 100 mL
- Acide sulfurique 2 N	- Acide sulfurique à 96% - Eau distillée (QSP)	- 5,6 mL - 100 mL
- Ammoniaque ½	- Ammoniaque - Eau distillée (QSP)	- 30 mL - 60 mL
- Ether/ chloroforme (3/1)	- Ether - chloroforme	- 3 volumes - 1 volume
- Hydroxyde de potassium 0,1 M/L	- Hydroxyde de potassium - Eau R	- 5,611 g - Complétez à 1000 mL
- Solution alcoolique d'hydroxyde de potassium à 10%	- Hydroxyde de potassium - Ethanol à 96%	- 10 g - 100 mL
- Hydroxyde de sodium 0,1 N	- Hydroxyde de sodium - Eau distillée (QSP)	- 4 g - 100 mL
- Propanol/Acide chlorhydrique	- Propanol - Acide chlorhydrique	- 1 volume - 2 volumes
- Réactif de Dragendorff	- Nitrate de bismuth - Acide acétique glacial - Iodure de potassium - Eau distillée	- 0,85 g - 30 mL - 8 g - 60 mL
- Réactif de STIASNY	- Formol à 30% - Acide chlorhydrique concentré	- 1 volume - 2 volumes

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **PARIS R. et MOYSE H.**, "Matière Médicale", Tome I, (1965), Ed. Masson et Cie, Paris.
2. **SUFFREDINI I.B., SADER H.S., GONÇALVES A.G., REIS A.O., GALES A.C., VARELLA A.D. and YOUNES R.N.**, "Screening of Antibacterial Extracts From Plants Native to the Brazilian Amazon Rain Forest and Atlantic Forest", *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, (2004), 37(3):379-384.
3. **PHILOGENE B., REGNAULT-ROGER C. and VINCENT C.**, "Botanicals: Yesterday's and Today's Promises", *Biopesticides of Plant Origin*, (2005), 1-15.
4. **FAROMBI E.O.**, "African Indigenous Plants With Chemotherapeutic Potentials and Biotechnological Approach to the Production of Bioactive Prophylactic Agents", *African Journal of Biotechnology*, (2003), 2(12):662-671.
5. **QUEZEL P. et SANTA S.**, "Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales", Tome I, (1962), ED. du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
6. **BENKIKI N.**, "Etude Phytochimique des Plantes Médicinales Algériennes : *Rutamontana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*", Thèse de Doctorat, (2006), Université El Hadj Lakhdar de Batna 1, ALGÉRIE.
7. **ZOUHAR M., DOUDA O., LHOTSKÝ D. and PAVELA R.**, "Effect of Plant Essential Oils on Mortality of the Stem Nematode (*Ditylenchus dipsaci*)", *Plant Protection Science*, (2009), 45(2):66-73.
8. **SELLAMI S., MEZRKET A. et DAHMANE T.**, "Activité nématocide de Quelques Huiles Essentielles contre *Meloidogyne incognita*", *Nematologia Mediterranea*, (2009), 38(2).
9. **PATIL M.V.K., KANDHARE A.D. and BHISE S.D.**, "Anti-inflammatory Effect of *Daucuscarota* Root on Experimental Colitis in Rats", *International Journal of Pharmacology Sciences*, (2012), 4(1):337-343.
10. **ALARD F., GEERTS S. et TRIEST L.**, "Toxicité d'*Ambrosia maritima* L., Plante Molluscicide, sur les Organismes Aquatiques Non-Ciblés", *Toxicon*, (1991), 29(6):745-750.
11. **LIS-BALCHIN M. and DEANS S.**, "Bioactivity of Selected Plant Essential Oils against *Listeria monocytogenes*", *Journal of Applied Microbiology*, (1997), 82(6):759-762.

12. **MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C.**, "Les Composés Phénoliques des Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires d'Importance Economique", (2005), Presses Polytechniques.
13. **PARIS R. et MOYSE H.**, "Matière Médicale". Tome II, (1971), Ed. Masson et Cie, Paris.
14. **GUILLAUME D. et CHARROUF Z.**, "Saponines et Métabolites Secondaires de l'Arganier (*Argania spinosa*)", Cahiers Agricultures, (2005), 14(6):509-516.
15. **GUIGNARD J.L.**, "Biochimie Végétale", (2000), Ed. Dunod, Paris.
16. **BRUNETON J.**, "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales", (2009), 4<sup>e</sup> Ed. Lavoisier.
17. **ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O. et VICAN P.**, "Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification Préparation et Soins", (2001), Ed. Larousse Bordas.
18. **PILLET J.**, "Impact du Microclimat sur le Métabolisme de la Baie de Raisin", (2011), Bordeaux 2.
19. **RICHTER G.**, "Métabolisme des Végétaux : Physiologie et Biochimie", (1993), Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Paris.
20. **LEETE E.**, "The Biosynthesis of Nicotine and Related Alkaloids in Intact Plants, Isolated Plant Parts, Tissue Cultures, and Cell-Free Systems", Environmental Science Research, (1992), 44:121-140.
21. **BUNNEY S., STODOLA J., VOLAK J. and SEVERA F.**, "The Illustrated Encyclopedia of Herbs : Their Medicinal and Culinary Uses", (1992), Chancellor.
22. **AKOWUAH G., ISMAIL Z., NORHAYATI I. and SADIKUN A.**, "The Effects of Different Extraction Solvents of Varying Polarities on Polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and Evaluation of the Free Radical-Scavenging Activity", Food Chemistry, (2005), 93(2):311-317.
23. **MUTHU C., AYYANAR M., RAJA N. and IGNACIMUTHU S.**, "Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India", Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, (2006), 2(1):43.
24. **NIJVELDT R.J., VAN NOOD E., VAN HOORN D.E., BOELENS P.G., VAN NORREN K., and VAN LEEUWEN P.A.**, "Flavonoids : a Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications", The American Journal of Clinical Nutrition, (2001), 74 (4):418-425.
25. **PSOTOVA J., KOLAR M., SOUSEK J., ŠVAGERA Z., VICAR J. and ULRICHOVA J.**, "Biological Activities of *Prunella vulgaris* Extract", Phytotherapy Research, (2003), 17(9):1082-1087.



26. **COWAN M.M.**, "Plant Products as Antimicrobial Agents", *Clinical Microbiology Reviews*, (1999), 12(4):564-582.
27. **HANS W.**, "1000 Plantes Aromatiques et Médicinales", (2007), Terre Ed.
28. **HASLAM E.**, "Plant Polyphenols, Vegetable Tannins Revisited", (1989), CUP Archive.
29. **NARAYANA K.R., REDDY M.S., CHALUVADI M. and KRISHNA D.**, "Bioflavonoids, Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential", *Indian journal of pharmacology*, (2001), 33(1):2-16.
30. **ERDMAN J.W., BALENTINE D., ARAB L., BEECHER G., DWYER J.T., FOLTS J., HARNLY.J., HOLLMAN P., KEEN C.L. and MAZZA G.**, "Flavonoids and Heart health : Proceedings of the North America Flavonoids Workshop", (2005), *The Journal of Nutrition*, 137(3):718S-737S.
31. **MEDIC-ŠARIĆ M., JASPRICA I., MORNAR A., SMOLCIC-BUBALO A. and GOLJA P.**, "Quantitative Analysis of Flavonoids and Phenolic Acids in Propolis by Two-Dimensional thin Layer Chromatography", *Journal of Planar Chromatography-Modern*, (2004), 17(100):459-463.
32. **ALOTHMAN M., BHAT R. and KARIM A.**, "Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Selected Tropical Fruits from Malaysia, Extracted with Different Solvents", *Food Chemistry*, (2009), 115(3):785-788.
33. **MALESEV D. and KUNTIC V.**, "Investigation of Metal-Flavonoid Chelates and the Determination of Flavonoids via Metal-Flavonoid Complexing Reactions", *Journal of the Serbian Chemical Society*, (2007), 72(10):921-939.
34. **BROUILLARD R., GEORGE F. and FOUGEROUSSE A.**, "Polyphenols Produced During Red Wine Ageing", *Biofactors*, (1997), 6(4):403-410.
35. **HARBORNE J.B.**, "The Flavonoids : Advances in Research Since 1980", (2013), Ed. Springer Science.
36. **IWASHINA T.**, "The Structure and Distribution of the Flavonoids in Plants", *Journal of Plant Research*, (2000), 113(3):287-299.
37. **SKOOG D.A. et WEST D.M.**, "Chimie Analytique", (2015), Ed. De Boeck.
38. **ROSSET R., CAUDE M. et JARDY A.**, "Chromatographies en Phases Liquide et Supercritique", (1991), Ed. Masson.
39. **VALNET J.**, "The Practice of Aromatherapy", *Holistic Health, Essential Oils of Flowers and Herbs*, (1980), New York, Destiny Books.
40. **BERNARD T., PERINEAU F., BRAVO R., DELMAS M. et GASET A.**, "Extraction des Huiles essentielles, Chimie et Technologie", *Informations Chimie*, (1988), (298):179-184.
41. **MARTINI M.C. et SEILLER M.**, "Actifs et Additifs en Cosmétologie", (1999), Ed. TEC et DOC, Lavoisier, Paris.

42. **AFNOR.**, Huiles essentielles, (2000).
43. **TELPON T. et DE PAILLETTE I.**, ABC des Huiles Essentielles, (2003), Ed. Grancher.
44. **PHARMACOPEE EUROPEENNE.**, "Conseil d'Europe", (2008), 6<sup>e</sup> Ed, Strasbourg.
45. **REGNAULT-ROGER C.**, "Molécules Allélochimiques et Extraits Végétaux dans la Protection des Plantes : Nature, Rôle et Bilan de leur Utilisation au XX e Siècle. Enjeux Phytosanitaires pour l'Agriculture et l'Environnement" (2005), Ed. Lavoisier, Paris.
46. **CAPON M., COURILLEAU-HAVERLANT V. et VALETTE C.**, "Chimie des Couleurs et des Odeurs", (1993), Ed. Cultures et Techniques.
47. **BAALIOUAMER A., MEKLATI B.Y., FRAISSE D. and SCHARFF C.**, "The Chemical Composition of Some Cold-Pressed Citrus Oils Produced in Algeria", Journal of Essential Oil Research (1992), 4(3):251-258.
48. **SALLE J.L. et PELLETIER J.**, "Les Huiles Assentielles : Synthèse d'Aromathérapie et Introduction à la Sympathicothérapie", (1991), Ed. Frison-Roche.
49. **BELAICHE P.**, "Traité de Phytothérapie et D'aromathérapie", (1979), Ed. Paris.
50. **PIBIRI M.C.**, "Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Eessentielles", Thèse de Doctorat, (2006), École Polytechnique Fédérale de Lausanne, EPFL.
51. **PANIZZI L., FLAMINI G., CIONI P. et MORELLI I.**, "Composition and Antimicrobial Properties of Essential Oils of Four Mediterranean Lamiaceae", Journal of Ethnopharmacology, (1993), 39(3):167-170.
52. **HEINRICH G. et SCHULTZE W.**, "Composition and Site of Biosynthesis of the Essential Oil in Fruits of *Phellodendron amurense* Rupr.(Rutaceae)", Journal of Botany, (1985), 34(2-4):205-217.
53. **PINGOT A.**, "Les Huiles Essentielles", (1998), Ed. Tec et Doc, Paris, France.
54. **AFLATUNI A.**, "The Yield and Essential Oil Content of Mint (*Mentha spp.*) in Northern Ostrobothnia", (2005), PhD Thesis, University of Oulu.
55. **DELAQUIS P.J., STANICH K., GIRARD B. and MAZZA G.**, "Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill, Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential Oils", International Journal of Food Microbiology, (2002), 74(1):101-109.
56. **CLARK R. and MENARY R.**, "Environmental Effects on Peppermint (*Mentha piperita* L.), I. Effect of Daylength, Photon Flux Density, Night

- Temperature and Day Temperature on the Yield and Composition of Peppermint Oil", *Functional Plant Biology*, (1980), 7(6):685-692.
57. **EL ABED D. et KAMBOUCHE N.**, "Les Huiles Essentielles", (2003), Ed Dar El Gharb, Oran.
  58. **MORIN P., GUNTHER C., PEYRON L., et RICHARD H.**, "Etude des Phénomènes Physico-chimiques Intervenant lors du Procédé d'Hydrodistillation", *Bulletin de la Société Chimique de France*, (1985) (5):921-930.
  59. **AIYEGORO O.A. et OKOH A.I.**, "Preliminary Phytochemical Screening and *in vitro* Antioxidant Activities of the Aqueous Extract of *Helichrysum longifolium* DC", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, (2010), 10(1):21.
  60. **PHARMACOPEE EUROPEENNE.**, "Conseil d'Europe", (2010), 1<sup>e</sup> Ed, Strasbourg.
  61. **ARPINO P., PREVOT A., SERPINET J., TRANCHANT J., VERGNOL A. et WITIER P.**, "Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Gazeuse", (1995), Ed Masson, Paris.
  62. **LEHOTAY S.J. and HAJLSLOVA J.**, "Application Of Gas Chromatography in Food Analysis", *Trac Trends in Analytical Chemistry*, (2002), 21(9-10):686-697.
  63. **MONDELLO L., CASILLI A., TRANCHIDA P.Q., DUGO G., and DUGO P.**, "Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography in Combination with Rapid Scanning Quadrupole Mass Spectrometry in Perfume Analysis", *Journal of Chromatography*, (2005), 1067(1-2):235-243.
  64. **DE HOFFMANN E. et STROOBANT V.**, "Spectrométrie de Masse", *Cours et Exercices Corrigés*, (2005), Dunod.
  65. **RICHARD H. et MULTON J.L.**, "Les Arômes Alimentaires", (1992), Ed. Tec & Doc-Lavoisier Paris.
  66. **LUCCHESI M.E.**, "Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes Conception et Application à l'Extraction des Huiles Essentielles", (2005), Université de la Réunion.
  67. **CROUZET J.**, "Arômes Alimentaires", (2004), Ed. Techniques d'Ingénieur.
  68. **COTE G.**, "Extraction Liquide-Liquide : Présentation Générale, Techniques de l'Ingénieur, Génie des Procédés", (1998), 2:2761-2760.
  69. **KOKALIS-BURELLE N. and RODRÍGUEZ-KÁBANA R.**, "Allelochemicals as Biopesticides for Management of Plant-Parasitic Nematodes. In: *Allelochemicals : Biological Control of Plant Pathogens and Diseases*", (2006), Springer, 15-29.

70. **KIM S.I., ROH J.Y., KIM D.H., LEE H.S. and AHN Y.J.**, "Insecticidal Activities of Aromatic Plant Extracts and Essential Oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*", *Journal of Stored Products Research*, (2003), 39(3):293-303.
71. **LEE C.H., SUNG B.K. and LEE H.S.**, "Acaricidal Activity of Fennel Seed Oils and their Main Components against *Tyrophagus putrescentiae*, A Stored-Food Mite", *Journal of Stored Products Research*, (2006), 42(1):8-14.
72. **SERTKAYA E., KAYA K. and SOYLU S.**, "Acaricidal Activities of the Essential Oils from Several Medicinal Plants against the Carmine Spider Mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina : Tetranychidae)", *Industrial Crops and Products*, (2010), 31(1):107-112.
73. **TABTI L., DIB M.E.A., GAOUAR N., SAMIRA B. and TABTI B.**, "Antioxidant and Antifungal Activity of Extracts of the Aerial Parts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns against Four Phytopathogenic Fungi of *Citrus sinensis*", *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, (2014), 9(1):49.
74. **SHEBABY W.N., DAHER C.F., EL-SIBAI M., BODMAN-SMITH K., MANSOUR A., KARAM M.C. and MROUEH M.**, "Antioxidant and Hepatoprotective Activities of the Oil Fractions from Wild Carrot (*Daucus carota* ssp. *carota*)", *Pharmaceutical biology*, (2015), 53(9):1285-1294.
75. **BEN EL HADJ ALI I., BAHRI R., CHAOUACHI M., BOUSSAÏD M. and HARZALLAH-SKHIRI F.**, "Phenolic Content, Antioxidant and Allelopathic Activities of Various Extracts of *Thymus numidicus* Poir. Organs", *Industrial Crops and Products*, (2014), 62:188-195.
76. **ASSOCIATION FRANÇAISE DE PROTECTION DES PLANTES**, "Proceedings of the Antibacterial Activity of Essential Oils of the Algerian Aromatic Plants *Ammoides verticillata* and *Thymus numidicus*", (2009), (AFPP).
77. **HAZZIT M., BAALIOUAMER A., VERISSIMO A., FALEIRO M. et MIGUEL M.G.**, "Chemical Composition and Biological Activities of Algerian Thymus Oils", *Food Chemistry*, (2009), 116(3):714-721.
78. **BENDIABDELLAH A., DIB M.E.A., MELIANI N., MUSELLI A., NASSIM D., TABTI B. and COSTA J.**, "Antibacterial Activity of *Daucus crinitus* Essential Oils Along the Vegetative Life of the Plant", *Journal of Chemistry*, (2013), 7.
79. **SOYLU S., YIGITBAS H., SOYLU E. and KURT Ş.**, "Antifungal Effects of Essential Oils from Oregano and Fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*", *Journal of Applied Microbiology*, (2007), 103(4):1021-1030.
80. **DU PLOOY W., REGNIER T. and COMBRINCK S.**, "Essential Oil Amended Coatings as Alternatives to Synthetic Fungicides in Citrus

- Postharvest Management", *Postharvest Biology and Technology*, (2009), 53(3):117-122.
81. **TABET ZATLA A., DIB M.E.A., DJABOU N., ILIAS F., COSTA J. and MUSELLI A.**, "Antifungal Activities of Essential Oils and Hydrosol Extracts of *Daucus carota* subsp. *sativus* for the Control of Fungal Pathogens, in Particular Gray Rot of Strawberry During Storage", *Journal of Essential Oil Research*, (2017), 29(5):391-399.
  82. **ISMAN M.B.**, "Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World", *Annual Revue of Entomology*, (2006), 51:45-66.
  83. **KOHLI R., BATISH D. and SINGH H.**, "Allelopathic Interactions in Agroecosystems", *Allelopathy*, (2006), Springer, 465-493.
  84. **SINGH H., BATISH D., SETIA N. and KOHLI R.**, "Herbicidal Activity of Volatile Oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*", *Annals of applied biology*, (2005), 146(1):89-94.
  85. **COSIMI S., ROSSI E., CIONI P. and CANALE A.**, "Bioactivity and Qualitative Analysis of Some Essential Oils from Mediterranean Plants against Stored-Product pests : Evaluation of Repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.)", *Journal of Stored Products Research*, (2009), 45(2):125-132.
  86. **SAIDJ F., REZZOUG S.A., BENTAHAR F. and BOUTEKEDJIRET C.**, "Chemical Composition and Insecticidal Properties of *Thymus numidicus* (Poiret) Essential Oil from Algeria", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, (2008), 11(4):397-405.
  87. **KASSIMI A., EL WATIK L. et MOUMNI M.**, "Action Insecticide de Certaines Huiles Essentielles et Végétales", *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, (2011), 7(2).
  88. **DJIAN-CAPORALINO C., VEDIE H. et ARRUFAT A.**, "Gestion des Nématodes à Galles : Lutte Conventionnelle et Luttes Alternatives. L'Atout des Plantes Pièges", *Phytoma*, (2009), 624:21-25.
  89. **SOLER-SERRATOSA A., KOKALIS-BURELLE N., RODRIGUEZ-KABANA R., WEAVER C. and KING P.**, "Allelochemicals for Control of Plant-Parasitic Nematodes, *in vivo* Nematicidal Efficacy of Thymol and Thymol/Benzaldehyde Combinations", *Nematropica*, (1996), 26(1):57-71.
  90. **ECHCHGADDA G., SQALLI H. et AMIRI S.**, "Screening de l'Activité Bionématicide de Différents extraits de *Thymus zygis*", *Proceedings du 7<sup>e</sup> Congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes*, (2010), (Rabat) Maroc, 631p.
  91. **MORO BURONZO A.**, "Grand Guide des Huiles Essentielles, Santé, Beauté et Bien-Être", (2008), Ed. Hachette.

92. **PATIL M.V.K., KANDHARE A.D. and BHISE S.D.**, "Pharmacological Evaluation of Ethanolic Extract of *Daucus carota* Linn Root Formulated Cream on Wound Healing Using Excision and Incision Wound Model", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (2012), 2(2):S646-S655.
93. **HAYAKAWA M., SATOU T., KOIKE K. and MASUO Y.**, "Anti-Fatigue Activity of Essential Oil from Thyme (Linalool Chemotype) in the Polyriboinosinic : Polyribocytidylic Acid-Induced Brain Fatigue Mouse", *Flavour and Fragrance Journal*, (2016), 31(5):395-399.
94. **AGASSOUNON D., DE SOUZA C., ANANI K., KOUMAGLO K., TOUKOUROU F. et GBEASSOR M.**, "Evaluation des Activités Cytotoxique, Antivirale, Antibactérienne et Antifongique de Six Plantes Médicinales", *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, (2001), 11:93-105.
95. **QUEZEL P. et SANTA S.**, "Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales", Tome II, (1963), Ed. du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris.
96. **CARATINI R. et CARATINI F.**, "La Vie des Plantes", (1976), Ed. Bordas.
97. **LAOUER H.**, "Inventaire de la Flore Médicinale Utilisée dans les Régions de Sétif, de Béjaia, de M'sila et de Djelfa—Composition et Activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles d'*Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr et de *Magydaris pastinacea* (Lamk) Paol", Thèse de Doctorat d'État, (2004), Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif, ALGÉRIE.
98. **REYNAUD J.**, "La Flore du Pharmacien", (2002), Ed. TEC et DOC.
99. **MACKEVIC V.**, "The Carrot of Afghanistan", *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*, (1929), 20:517-562.
100. **BANGA O.**, "Main Types of the Western Carotene Carrot and their Origin", (1963), Ed. Zwolle Netherlands.
101. **REDURON J.P.**, "Ombellifères de France", *Société Botanique du Centre-Ouest*, (2007), Vol. 2.
102. **TIRILLY Y. et BOURGEOIS C.M.**, "Technologie des Légumes", (1999), Ed. Tec & Doc.
103. **CRONQUIST A.**, "An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Columbia University Press.
104. **STANISZEWSKA M., KULA J., WIECZORKIEWICZ M. and KUSEWICZ D.**, "Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots, the Chemical Composition and Antimicrobial Activity", *Journal of Essential Oil Research*, (2005), 17(5):579-583.
105. **MAXIA A., MARONGIU B., PIRAS A., PORCEDDA S., TUVERI E., GONÇALVES M.J., CAVALEIRO C., and SALGUEIRO L.**, "Chemical Characterization and Biological Activity of Essential Oils from *Daucus*

- carota* L. subsp. *carota* Growing Wild on the Mediterranean Coast and on the Atlantic Coast", *Fitoterapia*, (2009), 80(1):57-61.
106. **MOHAMMEDI H., MECHERARA-IDJERI S., FOUJIL-CHERIF Y. and HASSANI A.**, "Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from Algerian *Daucus carota* L. subsp. *carota* Aerial Parts", *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, (2015), 18(4):873-883.
  107. **BENAYACHE F., CHALARD P., FIGUEREDO G., BENAYACHE F., and BENAYACHE S.**, "Chemical Composition of the Essential of *Thymus numidicus* Poiret", *Der Pharmacia Lettre*, (2014), 6(1):182-185.
  108. **BENAYACHE F., BOUREGHDA A., AMEDDAH S., MARCHIONI E., BENAYACHE F. and BENAYACHE S.**, "Flavonoids from *Thymus numidicus* Poiret", *Der Pharmacia Lettre*, (2014), 6(2):50-54.
  109. **MESSARA Y., FERNANE F. and MEDDOUR R.**, "Chemical Composition, Antibacterial, and Antifungal Activities of the Essential Oil of *Thymus numidicus* Poiret from Algeria", *Phytothérapie*, (2017), 1-6.
  110. **SAWICKI R.M.**, "Definition, Detection and Documentation of Insecticide Resistance", (1987), Ed. CIRAD RING.
  111. **GUENAOUI Y.**, "Nouveau Ravageur de la Tomate en Algérie, Première Observation de *Tuta absoluta*, Mineuse de la Tomate Invasive, dans la Région de Mostaganem, au Printemps 2008", *Phytoma-La Défense des Végétaux*, (2008), (617):18-19.
  112. **VIEIRA M.M.**, "Mineira do Tomateiro (*Tuta absoluta*), Uma, Nova Ameaca a Producao de Tomate Vseminario Internacional do Tomate de Industria", (2008), 23.
  113. **VERCHER R., LLOPIS V.N., PORCUNA J.L. Y MARI F.G.**, "La Polilla del Tomate, (*Tuta absoluta*)", *Phytoma Espana, La Revista Profesional de Sanidad Vegetal*, (2007), 194:16-23.
  114. **KILIÇ T.**, "First Record of *Tuta absoluta* in Turkey", *Phytoparasitica*, (2010), 38(3):243-244.
  115. **BARRIENTOS R., APABLAZA J., NORERO A. and ESTAY P.**, "Threshold Temperature and Thermal Constant for the Development of the South American Tomato Moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae)", *Ciencia e Investigacion Agraria (Chile)*, (1998), Ed. Agris.
  116. **OUWARD E.**, "Un Nouveau Ravageur de la Tomate", (2009).
  117. **GERMAIN J.F., LACORDAIRE A.I., COCQUEMPOT C., RAMEL J.M., et OUDARD E.**, "Un Nouveau Ravageur de la Tomate en France : *Tuta absoluta*", (2009), *PHM Rev. Hort.* 512: 37-41.
  118. **MAHDI K.**, "Importance des Facteurs Limitant les Pullulations de la Mineuse de la Tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) dans l'Algérois",

- Thèse de Doctorat, (2014), Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, ENSA, Alger, ALGÉRIE.
119. **NAIKA S., VAN LIDT DE JEUDE J., GOFFAU M.D., HILMI M. et VAN DAM B.**, "La Culture des Tomates : Production, Transformation et Commercialisation", (2005), Ed. Agromisa.
  120. **BLANCARD D.**, "Les Maladies de la Tomate : Identifier, Connaître, Maîtriser", (2009), Ed. Quae.
  121. **ROYER M.**, "Etude des Relations entre Croissance, Concentrations en Métabolites Primaires et Secondaires et Disponibilité en Ressources chez la Tomate avec ou sans Bioagresseurs", Thèse de Doctorat, (2013), Université de Lorraine.
  122. **SNOUSSI S.**, "Rapport de mission : Eude de Base sur la Tomate en Algérie", (2010), Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, Direction des statistiques.
  123. **HARBI A., ABBES K., DRIDI-ALMOHANDES B. and CHERMITI B.**, "Efficacy of Insect-Proof Nets Used in Tunisian Tomato Greenhouses against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) and Potential Impact on Plant Growth and Fruit Quality", Journal of Entomological and Acarological Research (2015), 47(3):109-116.
  124. **SABBOUR M. and NAYERA Y.S.**, "Evaluations of Three *Bacillus thuringiensis* against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) in Egypt", (2014), 3(8):2319-7064.
  125. **CONTRERAS J., MENDOZA J., MARTINEZ-AGUIRRE M., GARCIA-VIDAL L., IZQUIERDO J. and BIELZA P.**, "Efficacy of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* against *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae)", Journal of Economic Entomology, (2014), 107(1):121-124.
  126. **HANAFY H. and EL-SAYED W.**, "Efficacy of Bio-and Chemical Insecticides in the Control of *Tuta absoluta* (Meyrick) and *Helicoverpa armigera* (Hubner) Infesting Tomato Plants", Australian Journal of Basic and Applied Sciences, (2013), 7(2):943-948.
  127. **YANKOVA V., VALCHEV N. and MARKOVA D.**, "Effectiveness of Phytopesticide Neem Azal T/S® against Tomato Leaf Miner *Tuta absoluta* Meyrick in Greenhouse Tomato", (2014), Bulgarian Journal of Agricultural Science, 20:1116-1118.
  128. **HUSSEIN N., HUSSEIN M., GADEL HAK S. and HAMMAD M.**, "Effect of Two Plant Extracts and Four Aromatic Oils on *Tuta absoluta* Population and Productivity of Tomato Cultivar Gold Stone", Natural Science, (2014), 12:108-118.
  129. **GOUDABLE J. and FAVIER A.**, "Oxidative Free Radicals and Antioxidants", (1997), 11(2):115-120.



130. **GUTTERIDGE J, HALLIWELL B.**, "Antioxidants in Nutrition, Health, and Disease", (1994), Oxford University Press.
131. **POKORNY J., YANISHLIEVA N. and GORDON M.**, "Antioxidant in Food", Woodhed Publishing, USA, (2001), 103-107.
132. **BERSET C. et CUEVELIER M.E.**, "Méthodes d'Evaluation du Degré d'Oxydation des Lipides et Mesure du Pouvoir Antioxydant", Sciences des aliments, (1996), 16:219-245.
133. **FAVIER A.**, "Le Stress Oxydant", (2003), L'actualité chimique, 1:108.
134. **MOREL Y. and BAROUKI R.**, "Repression of Gene Expression by Oxidative Stress", Biochemical Journal, (1999), 342(3):481.
135. **BAROUKI R.**, "Stress Oxydant et Vieillessement", Médecine/Sciences, (2006), 22(3):266-272.
136. **ABUJA P.M. and ALBERTINI R.**, "Methods for Monitoring Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins", Clinica Chimica Acta, (2001), 306(1-2):1-17.
137. **PINCEMAIL J., MEURISSE M., LIMET R., et DEFRAIGNE J.**, "Mesure et Utilisation des Antioxydants en Médecine Humaine", MédiSphères, (1998), (73):29-33.
138. **SLIMI A. et LARUE J.P.**, "Risques de Glissement et Aménagements: l'Exemple du Glissement d'un Remblai Autoroutier à l'Ouest de Bouira (Grande Kabylie, Algérie), Physio-Géo Géographie Physique et Environnement", (2010), 4:87-106.
139. **MERDAS S.**, "Evaluation des Indicateurs de la Désertification dans les Ecosystèmes Steppiques", Thèse de Doctorat, (2017), Université des Frères Mentouri, Constantine1, ALGÉRIE.
140. **SELTZER P., LASSERRE A., GRANDJEAN A., AUBERTY R. et FOUREY A.**, "Le climat de l'Algérie", (1946), Ed. La Typo-litho.
141. **LEGER J.E.**, "Techniques de l'Ingénieur, Génie des Procédés Chimiques". Ed. Debaene, (1989), 2:360-860.
142. **PHARMACOPEERUSSE.**, "Pharmacopée Traditionnelle", 11<sup>e</sup> Ed., Tome II, (1940), Ed. Moscou.
143. **DOHOU R., YAMNI K., TAHROUCH S., HASSANI L.I., BADOUC A. et GMIRA N.**, "Screening Phytochimique d'une Endémique Iberomarocaine, *Thymelaea lythroides*", Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux, (2003), 142(1/4):61-78.
144. **RIBEREAU-GAYON P.**, "Plant phenolics", (1972), Ed. Oliver and Boyd.

145. **SINGLETON V.L., ORTHOFER R. and LAMUELA-RAVENTOS R.M.**, "Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent", *Methods in Enzymology*, (1999), Elsevier, 299:152-178.
146. **HMID I., ELOTHMANI D., HANINE H., OUKABLI A. and MEHINAGIC E.**, "Comparative Study of Phenolic Compounds and their Antioxidant Qtttributes of Eighteen Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivars Grown in Morocco", *Arabian Journal of Chemistry*, (2017), 10:S2675-S2684.
147. **CABRERA K., LUBDA D., EGGENWEILER H.M., MINAKUCHI H. and NAKANISHI K.**, "A New Monolithic-Type HPLC Column for Fast Separations", *Journal of Separation Science*, (2000), 23(1):93-99.
148. **ROSTAGNO M.A., PALMA M. and BARROSO C.G.**, "Ultrasound-Assisted Extraction of Soy Isoflavones", *Journal of Chromatography*, (2003), 1012(2):119-128.
149. **ZU Y., LI C., FU Y. and ZHAO C.**, "Simultaneous Determination of Catechin, Rutin, Quercetin, Kaempferol and Isorhamnetin in the Extract of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Leaves by RP-HPLC with DAD", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, (2006), 41(3):714-719.
150. **HUTABARAT L., GREENFIELD H. and MULHOLLAND M.**, "Quantitative Determination of Isoflavones and Coumestrol in Soybean by Column Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography*, (2000), 886(1-2):55-63.
151. **CHAVANNE M., BEAUDOIN G.J., JULLIEN A. et FLAMAND E.**, "Chimie Organique Expérimentale", (1986), Ed. Modulo.
152. **KARLESKIND A.**, "Handbook of Fats", (1996), Ed. Intercept Ltd.
153. **ADAMS R.P. and ADAMS R.**, "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy", (2005), Ed. Allured Publishing Corporation.
154. **DAGNELIE P.**, "Principes d'Expérimentation", (2012), Ed. Presses Agronomiques de Gembloux.
155. **DAHMANE T.**, "Contribution à l'Etude de l'Activité Nématocide de Quelques Extraits de Plantes Contre Meloidogyne incognita (White et Kofoid, 1919) Chitwood 1949 (Nematoda : Meloidogynidae)", Thèse de Magistère, (2011), Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie ENSA, Alger, ALGÉRIE.
156. **ABBOTT W.**, "Formula for Correction of Observed Mortality Due to Natural Mortality", *Journal of. Ecological Entomology*, (1925), 18(2):265-267.
157. **CAVELIER A.**, "Cours phytopharmacie" ,Institut National d'Agronomie, El-Harrach, (1976), 1:514.

158. **BEVERIDGE T.J.**, "Use of the Gram Stain in Microbiology", *Biotechnic & Histochemistry* ", (2001), 76(3):111-118.
159. **CHABASSE D.**, "Les Phaeohyphomycetes Agents de Ahaeohyphomycoses : Des Champignons Emergents", *Journal de Mycologie Médicale*, (2002), 12(2):65-85.
160. **JACOB M., PELLECUER. J. et TOMEI R.**, "Centre Régional d'Etude et de Développement des Plantes à Usage Pharmaceutique", *Rivista Italiana EPPOS*, (1979), 11:26-30.
161. **NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS NCCLS.**, "Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Testing", (2002), 12:01-53.
162. **FAUCHERE J.L. et AVRIL J.L.**, "Bactériologie Générale et Médicale", (2002), Ed. Ellipses.
163. **FRANZIN L., PENNAZIO M., CABODI D., ROSSINI F.P. and GIOANNINI P.**, "Clarithromycin and Amoxicillin Susceptibility of *Helicobacter pylori* Strains Isolated From Adult Patients with Gastric or Duodenal Ulcer in Italy", *Current Microbiology*, (2000), 40(2):96-100.
164. **MEENA M. and SETHI V.**, "Antimicrobial Activity of Essential Oils from Spices", *Journal of Food Science and Technology*, (1994), 31(1):68-70.
165. **CHIFUNDERA K., MBUYI W. and KIZUNGU B.**, "Phytochemical and Antibacterial Screening of the Extracts of *Ficus sycomorus*", *Fitoterapia*, (1990), 41(6):535-539.
166. **DONGMO P.M.J., KUATE J., BOYOM F.F., DUCELIER D., DAMESSE F., ZOLLO P.H.A., MENUT C. et BESSIERE J.M.**, "Composition Chimique et Activité Antifongique *in vitro* des Huiles Essentielles de Citrus sur la Croissance Mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*", *Fruits*, (2002), 57(2):95-104.
167. **HULIN V., MATHOT A.G., MAFART P. et DUFOSSÉ L.**, "Les Propriétés Anti-Microbiennes des Huiles Essentielles et Composés d'Arômes", *Sciences des Aliments*, (1998), 18(6):563-582.
168. **LAMBERT R., SKANDAMIS P.N., COOTE P.J. and NYCHAS G.J.**, "A Study of the Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of Oregano Essential Oil, Thymol and Carvacrol", *Journal of Applied Microbiology*, (2001), 91(3):453-462.
169. **DAVIDSON P. and PARISH M.**, "Methods for Testing the Efficacy of Food Antimicrobials", *Food technology*, (1989), 43(148):7.
170. **CANILLAC N. and MOUREY A.**, "Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and *Coliform bacteria*", *Food Microbiology*, (2001), 18(3):261-268.

171. **KARADAG A., OZCELIK B. and SANER S.**, "Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities", *Food Analytical Methods*, (2009), 2(1):41-60.
172. **BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E. and BERSET C.**, "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity", *Food Science and Technology*, (1995), 28(1):25-30.
173. **DAGNELIE P.**, "Analyse Statistique à Plusieurs Variables", (1975), Ed. Press Agronomique, Gembloux.
174. **IVIE G.W., BEIER R.C. and HOLT D.L.**, "Analysis of the Garden Carrot (*Daucus carota* L.) for Linear Furocoumarins (psoralens) at the Sub Parts Per Million Level", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1982), 30:413-6.
175. **GEBHARDT Y., WITTE S., FORKMANN G., LUKACIN R., MATERN U. and MARTENS S.**, "Molecular Evolution of Flavonoid Dioxygenases in the Family Apiaceae", *Phytochemistry*, (2005), 66:1273-84.
176. **ABDOUNE M.A., BENBELAÏD F., KHADIR A. and BENDAHOU M.**, "Evaluation of Antimicrobial Activity of Solvent Extracts from Different Parts of *Daucus crinitus* Desf", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (2013), 3(11):117-121.
177. **MELIANI N., DIB M.A., DJABOU N., COSTA J., ALLALI H. and TABTI B.**, "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Daucus aureus* Desf. Essential oils from Algeria", *Natural Product Communications*, (2013), 8:835-40.
178. **TREKI AMINA S., MERGHEM R. et DEHIMAT L.**, "Étude Phytochimique et Evaluation de l'Activite Antibacterienne d'une Labiee : *Thymus hirtus*", *Sciences & Technologie C*, (2009), 29:25-9.
179. **KHOLKHAL F., LAZOUNI H., BENDAHOU M., BOUBLENZA I., CHABANE S. et CHAOUCH T.**, "Étude Phytochimique et Évaluation de l'Activité Antioxydante de *Thymus Ciliatus*", *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, (2013), 9(1):151-8.
180. **ZEGHAD N. and MERGHEM R.**, "Antioxidant and Antibacterial Activities of *Thymus vulgaris* L.", *Medicinal and Aromatic Plant Research Journal* (2013), 1(1):5-11.
181. **ZEGHIB A.**, "Etude Phytochimique et Activités Antioxydante, Antiproliférative, Antibactérienne et Antivirale d'Extraits et d'Huiles Essentielles de Quatre Espèces Endémiques du genre *Thymus*", Thèse de Doctorat (2013), Université Constantine 1, ALGÉRIE.
182. **GEORGIU D., DJEDDI S. and SKALTSA H.**, "Secondary Metabolites from *Thymus numidicus* Poiret", *Biochemical Systematics and Ecology*, (2015), 59:104-106.

- 183 **DJEDDI S., YANNAKOPOULOU E., PAPADOPOULOS K. et SKAL TSA H.**, "Activités Antiradicalaires de l'Huile Essentielle et des Extraits Bruts de *Thymus numidicus* Poiret, Algérie", *Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie*, (2015), 11:58-65.
- 184 **BENYAHIA S.**, "Activités Antimicrobiennes et Insecticides de *Thymus capitatus*, *Daucus crinitus* et *Tetraclinis articulata* sur la mineuse *Tuta absoluta* (Meyrick) et la Microflore Pathogène de la tomate *Lycopersicum esculentum*", Thèse de Doctorat, (2015), Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, ALGÉRIE.
- 185 **MLADENOVIC J., RADOVANOVIC A., PAVLOVIC R., RADOVANOVIC B., ZDRAVKOVIC J. and ACAMOVIC-ĐOKOVIC G.**, "Cytotoxicity, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Daucus carota* L., *Lycopersicum esculentum* Mill. and *Capsicum annum* L." *Bulgarian Chemical Communications*, (2015), 47:38-44.
- 186 **ALY-TORKY Z.**, "Antiviral Activity of Polyphenols Extracts From *Daucus carota* against Herpes Simplex Virus type 1", *Turkish Online Journal of Science & Technology*, (2013), 3:1:20.
- 187 **PAVLYUK I., STADNYTSKA N., JASICKA-MISIAK I., GORKA B., WIECZOREK P-P. and NOYIKOY V.**, "A Study of the Chemical Composition and Biological Activity of Extracts from Wild Carrot (*Daucus carota* L.) Seeds Waste", *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, (2015), 6:603-11.
- 188 **BENKINIOUAR R., TOUIL A., ZAIDI F., RHOUATI S., CHOSSON E. and SEGUIN E.**, "Isolation and Identification of Five Free Flavonoid Aglycones from *Thymus numidicus*", *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, (2010), 20:(187):11-5.
- 189 **WOJCIKOWSKI K., STEVENSON L., LEACH D., WOHLMUTH H. and GOBE G.**, "Antioxidant Capacity of 55 Medicinal Herbs Traditionally Used to Treat the Urinary System : A Comparison Using a Sequential Three-Solvent Extraction process", *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, (2007), 13:103-10.
- 190 **BEHIDJ-BENYOUNES N., DAHMANE T., BEHIDJ K-K., CHEBOUTI N. and KEBBOUCHE-GANA S.**, "Antibacterial and Antifungal Effects of Flavonoids Isolated from *Crateagus oxyacantha* (L.) Fruits in the North Algerian Regions (Boumerdes and Bainem)", 14<sup>th</sup> International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM, (2014), Book 6,(1):231-238.
- 191 **BOURGOU S., SERAIRI BEJI R., MEDINI F. et KSOURI R.**, "Effet du Solvant et de la Méthode d'Extraction sur la Teneur en Composés Phénoliques et les Potentialités Qntioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*", *Journal of New Sciences*, (2017), 28(11):1649-1655.

- 192 **DJARRI L., MEDJROUBI K., AKKAL S., ELOMRI A., SEGUIN E. and VERITE P.**, "Composition of the Essential Oil of Aerial Parts of an Endemic Species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss". Flavour and Fragrance Journal, (2006), 21:647-649.
- 193 **GLISIC S.B., MISIC D.R., STAMENIC M.D., ZIZOVIC I.T., ASANIN R.M. and SKALA D.U.**, "Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential oil : Chemical Composition and Antimicrobial Activity", Food Chemistry, (2007), 105:346-352.
- 194 **IMAMU X., YILI A., AISA H., MAKSIMOV V., VESHKUROVA O. and SALIKHOV S.I.**, "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Daucus carota* subsp. *sativa* seeds", Chemistry of Natural Compounds, (2007), 43:495-506.
- 195 **CHIZZOLA R.**, "Composition of the Essential Oil from *Daucus carota* ssp. *carota* Growing Wild in Vienna". Journal of Essential Oil Bearing Plants, (2010), 13:12-9.
- 196 **EL KOLLI M., LAOUER H., EL KOLLI H., AKKAL S. and SAHLI F.**, "Chemical Analysis, Antimicrobial and Anti-oxidative Properties of *Daucus gracilis* essential Oil and its Mechanism of Action", Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, (2016), 6:8-15.
- 197 **BENDIABDELLAH A., DIB M.E.A., DJABOU N., HASSANI F., PAOLINI J. and TABTI B.**, "*Daucus carota* ssp. *hispanicus* Gouan, Essential Oils : Chemical Variability and Fungitoxic Activity", Journal of Essential Oil Research, (2014), 26:427-240.
- 198 **VERMA R.S., PADALIA R.C. and CHAUHAN A.**, "Chemical Composition Variability of Essential Oil During Ontogenesis of *Daucus carota* L. subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.", Industrial Crops and Products, (2014), 52:809-814.
- 199 **BEHIDJ-BENYOUNES N., BENYOUNES K., DAHMANE T., CHEBOUTI N. and GANA S.**, "Physicochemical Profile of Essential Oil of *Daucus carota*", World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, (2015), 9:200-203.
- 200 **MSAADA K., TAARIT M.B., HOSNI K., HAMMAMI M. and MARZOUK B.**, "Regional and Maturational Effects on Essential Oils Yields and Composition of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Fruits", Scientia Horticulturae, (2009), 122:116-24.
- 201 **SAAD H.A., EL-SHARKAWY S. and HALIM A.**, Essential Oils of *Daucus carota* ssp. *maximus*" Pharmaceutica Acta Helvetiae, (1995), 70:79-84.
- 202 **OZCAN M.M. and CHALCHAT JC.**, "Chemical Composition of Carrot Seeds (*Daucus carota* L.) Cultivated in Turkey : Characterization of the Seed Oil and Essential Oil", Grasas y Aceites, (2007), 58:359-365.

- 203 **TAVARES A.C., GONÇALVES M.J., CAVALEIRO C., CRUZ M.T., LOPES M.C. and CANHOTO J.**, "Essential Oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus* : Composition, Antifungal Activity and Cytotoxicity", *Journal of Ethnopharmacology*, (2008), 119:129-134.
- 204 **SOKOVIC M., STOJKOVIC D., GLAMOCLIJA J., ĆIRIC A., RISTIC M. and GRUBISIC D.**, "Susceptibility of Pathogenic Bacteria and Fungi to Essential Oils of Wild *Daucus carota*", *Pharmaceutical Biology*, (2009), 47:38-43.
- 205 **MARZOUKI H., KHALDI A., FALCONIERI D., PIRAS A., MARONGIU B. and MOLICOTTI P.**, "Essential Oils of *Daucus carota* subsp. *carota* of Tunisia Obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction", *Natural Product Communications*, (2010), 5:1955-1958.
- 206 **ROKBENI N., M'RABET Y., DZIRI S., CHAABANE H., JEMLI M. and FERNANDEZ X.**, "Variation of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Natural Populations of Tunisian *Daucus carota* L.(Apiaceae)", *Chemistry and biodiversity*, (2013), 10:2278-2290.
- 207 **KABOUCHE Z, BOUTAGHANE N, LAGGOUNE S, KABOUCHE A, AIT-KAKI Z, and BENLABED K.** "Comparative Antibacterial Activity of Five Lamiaceae Essential Oils from Algeria", *International Journal of Aromatherapy*, (2005), 15:129-133.
- 208 **HADEF Y., KALOUSTIAN J., CHEFROUR A., MIKAIL C., ABOU L. and GIODANI R.**, "Chemical Composition and Variability of the Essential Oil of *Thymus numidicus* Poir. from Algeria", *Acta Botanica Gallica*, (2007), 154:265-274.
- 209 **LAOUER H., BOULAACHEB N., AKKAL S., MEIERHENRICH U.J., BALDOVINI N. and PRADO S.**, "Composition and *in vitro* Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Two Populations of *Thymus numidicus* Poiret", *Journal of Essential Oil Research*, (2009), 21:374-377.
- 210 **ZEGHIB A., LAGGOUNE S., KABOUCHE A., SEMRA Z., SMATI F. and TOUZANI R.**, "Composition, Antibacterial and Antioxidant Activity of the Essential Oil of *Thymus numidicus* Poiret from Constantine (Algeria)", *Der Pharmacia Lettre*, (2013), 5:206-210.
- 211 **ADRAR N., OUKIL N. and BEDJOU F.**, "Antioxidant and Antibacterial Activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* Essential Oils Alone or in Combination", *Industrial Crops and Products*, (2016), 88:112-119.
- 212 **KOUCH M., BENNADJI S., DJAHOUDI A. and AOUADI S.**, "Antipseudomonal Activity of the Essential Oil of *Thymus numidicus* Poiret", *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, (2014), 25(2)29:149-153.
- 213 **GHORAB H., KABOUCHE A. and KABOUCHE Z.**, "Comparative Compositions of Essential Oils of *Thymus* Growing in Various Soils and

- Climates of North Africa, Sahara", *Journal of Materials and Environmental Science*, (2014), 5(1):298-303.
- 214 **BOUGHENDJIOUA H. and DJEDDI S.**, "Quality Attributes of the Thyme (*Thymus numidicus* Poiret.) Essential Oil", *Journal of Plant Sciences*, (2018), 6:12-5.
- 215 **SARAFIS V., RUMPEL H., POPE and KUHN W.**, "Non-invasive Histochemistry of Plant Materials by Magnetic Resonance Microscopy", *Protoplasma*, (1990), 159:70-73.
- 216 **DEYSSON G.**, "Éléments d'Anatomie des Plantes Vasculaires", (1965), Ed. Sedes, France.
- 217 **TCHOUMBOUGNANG F., DONGMO P.M.J., SAMEZA M.L., MBANJO E.G.N., FOTSO G.B.T. and ZOLLO P.H.A.**, "Larvicidal Activity against *Anopheles gambiae* Giles and Chemical Composition of Essential Oils from Four Plants Cultivated in Cameroon", *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, (2009), 13(1):77-84.
- 218 **BOUGUERRA N., DJEBBAR F.T. and SOLTANI N.**, "Algerian *Thymus vulgaris* Essential Oil : Chemical Composition and Larvicidal Activity against the Mosquito *Culex pipiens*", (2017), 4(1):37-42.
- 219 **OULEBSIR-MOHANDKACI H., AIT KAKI S. and DOUMANDJI-MITICHE B.**, "Essential Oils of Two Algerian Aromatic Plants *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus* as Bio-insecticides against Aphid *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae)", *Wulfenia Journal*, (2015), 22(2):185-197.
- 220 **SHAALAN E.A., CANYON D.V., YOUNES M.W., ABDEL-WAHAB H. and MANSOUR A.H.**, "Efficacy of Eight Larvicidal Botanical Extracts from *Khaya senegalensis* and *Daucus carota* against *Culex annulirostris*", *Journal of the American Mosquito Control Association*, (2006), 22:433-436.
- 221 **PARK H.M and PARK I.K.**, "Larvicidal Activity of *Amyris balsamifera*, *Daucus carota* and *Pogostemon cablin* Essential Oils and their Components against *Culex pipiens pallens*", *Journal of Asia-Pacific Entomology*, (2012), 15:631-634.
- 222 **EL IDRISSE M., EL HOURRI M., AMECHROUQ A. and LEMRHARI A.**, "Insecticide Activity Study of Essential Oils of *Daucus carota* (L.) ssp. *carota* (Apiaceae) and *Chenopodium ambrosioides* (L.) (Chenopodiaceae) on White Larvae of *Melolontha melolontha*", *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, (2015), 5(3):28-40.
- 223 **EL HOURRI M., AMECHROUQ A., EL IDRISSE M. and BOUGHADAD A.**, Etude de la Composition Chimique et de l'Activité Insecticide des Huiles Essentielles de *Dysphania ambrosioides* (L.) (Chenopodiaceae) et de *Daucus carota* (L.) ssp. *carota* (Apiaceae) sur *Bruchus lentis* (Coleoptera : Chrysomelidae) Study of the Chemical Composition and Activity of Essential Oils", *La Science en Liberté*, (2014), 6(140118):1-19.



- 224 **MORENO S.C., CARVALHO G.A., PICANÇO M.C., MORAIS E.G. and PEREIRA R.M.**, "Bioactivity of Compounds from *Acmella oleracea* against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) and Selectivity to Two Non-Target Species", *Pest Management Science*, (2012), 68:386-393.
- 225 **ALLAL-BENFEKIH L., BELLATRECHE M., BOUNACEUR F., TAIL G. and MOSTEFAOUI H.**, "First Approach of Using Aqueous Extracts of *Inula viscosa*, *Salvia officinalis* and *Urtica urens* for the Control of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) an Invasive Pest of Tomato in Algeria", 9<sup>e</sup> Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, Montpellier, France, Association Française de Protection des Plantes (AFPP), (2011) 681-689.
- 226 **NILAHYANE A., BOUHARROUD R., HORMATALLAH A. and TAADAOUIT N.**, "Larvicidal Effect of Plant Extracts on *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae)", *Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate*, (2012), 80:305-310.
- 227 **AIT TAADAOUIT N., NILAHYANE A., HSAINE M., ROCHDI A., HORMATALLAH A. et BOUHARROUD R.**, "L'effet des Extraits Végétaux sur la Mineuse de la Tomate *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae)", (2011), *Actes du Premier Congrès International de l' Arganier*, Agadir, 411-417.
- 228 **ZACCARDELLI M., CAMPANILE F. and RONGAI D.**, "Use of Essential Oils and Glucosynolates to Control Insects and Viral Damages on Tomato Cultivated in Open Field", *III International Symposium on Tomato Diseases* (2011), 397-399.
- 229 **BOUAYAD ALAM S., DIB M.E.A., DJABOU N., TABTI B., GUAOUAR BENYELLES N., Costa J. and MUSELLI A.**, "Essential oils as biocides for the control of fungal infections and devastating pest (*Tuta absoluta*) of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)", *Chemistry & Biodiversity*, (2017), 14: 7.
- 230 **GHANIM N.M. and ABDEL GHANI S.**, "Controlling *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae) and *Aphis gossypii* (Hemiptera : Aphididae) by aqueous plant extracts", *Life Science Journal*, (2014), 11:299-307.
- 231 **BERIMA E. and OSMAN A.**, "The impact of hexane and ethanol extracts of *Jatropha* seeds, Arqel stems and malathion on mortality and fecundity of tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae)", *Universal Journal of Applied Science*, (2014), 2:93-98.
- 232 **SALAMA H.S. and SHEHATA I.E.**, "Bioactivity and Repellency of Some Plant Extracts Against the Tomato Leaf Miner *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae)", *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, (2017), 8:1021-1037.
- 233 **BRITO E.F.D., BALDIN E.L.L., SILVA R.D.C.M., RIBEIRO L.D.P. and VENDRAMIM J.D.**, "Bioactivity of Piper Extracts on *Tuta absoluta*

- (Lepidoptera : Gelechiidae) in Tomato", Pesquisa Agropecuária Brasileira, (2015), 50:196-202.
- 234 **BENCHOUIKH A., ALLAM T., KRIBII A. and OUNINE K.**, "Evaluation of the Insecticidal Effect of the Essential Oil of *Cinnamomum zeylanicum* against *Tuta absoluta* (Meyrick)", International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, (2015), 4:8033-8037.
- 235 **BENCHOUIKH A., ALLAM T., KRIBII A. and OUNINE K.**, "The Study of the Insecticidal Effect of *Nigella sativa* Essential Oil against *Tuta absoluta* Larvae", International Journal Science & Technology Research, (2015), 4:88-90.
- 236 **BOUALEM M., OSMAN B. and SAIAH F.**, "Study of the Larvicidal Activity of Hydro-alcoholic Extracts *Nerium oleander* L. and *Ricinus communis* L. on *Tuta absoluta*", VII International Scientific Agriculture Symposium, Agrosym (2016), Jahorina, Bosnia and Herzegovina Proceedings : University of East Sarajevo, Faculty of Agriculture, (2016), 1662-1668.
- 237 **DEHLIZ A., LAKHDARI W., ACHEUK F., AOUDJIT R., BENLAMOUDI W., MLIK R., HAMMI H., CHERGUI S., GUERMIT K. and MATALLAH S.**, "*Euphorbia guyoniana* Aqueous Extract Efficiency against Tomato Leaf Miner in Southern East Algeria", Organic Agriculture, (2017), 1-6.
- 238 **SHIBERU T. and GETU E.**, "Effects of Crude Extracts of Medicinal Plants in the Management of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) Under Laboratory and Glasshouse Conditions in Ethiopia", Journal of Entomology and Nematology, (2017), 9:9-13.
- 239 **DERAVEL J., KRIER F. et JACQUES P.**, "Les Biopesticides, Compléments et Alternatives aux Produits Phytosanitaires Chimiques (Synthèse Bibliographique)", A Review Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, (2014), 218:220.
- 240 **REES S.B., and HARBORNE JB.**, "The Role of Sesquiterpene Lactones and Phenolics in the Chemical Defence of the Chicory Pant", Phytochemistry, (1985), 24:2225-2231.
- 241 **EL MODAFAR C., EL BOUSTANI E. et EL AABIDINE A.Z.**, "Rôle des Polyphénols dans la Défense Naturelle des Plantes contre les Phytopathogènes, Résistance du Palmier dattier à la fusariose", Biopesticides d'Origine Végétale, (2008), Ed. Lavoisier.
- 242 **OKA Y., NACAR S., PUTIEVSKY E., RAVID U., YANIV Z. and SPIEGEL Y.**, "Nematicidal Activity of Essential Oils and their Components against the Root-knot Nematode", Phytopathology, (2000), 90:710-715.
- 243 **NEGAHBAN M., MOHARRAMIPOUR S. and SEFIDKON F.**, "Insecticidal Activity and Chemical Composition of *Artemisia sieben* Besser Essential Oil from Karaj, Iran", Journal of Asia-Pacific Entomology, (2006), 9:61-6.

- 244 **BOULOGNE I.**, "Evaluation du Potentiel Insecticide et Antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reich) d'une Sélection de Plantes à Usages Ethnopharmacologiques", Thèse de Doctorat, (2011), Université des Antilles et de la Guyane.
- 245 **PILET C., BOURDON J.L., TOMA B. et MARCHAL N.**, "Bacteriologie Médicale et Vétérinaire, Systematique Bacterienne", (1975), Ed. Doin.
- 246 **JASICKA-MISIAK I., LIPOK J., NOWAKOWSKA E.M., WIECZOREK P.P., MLYNARZ P. and KAFARSKI P.**, "Antifungal Activity of the Carrot Seed Oil and its Major Sesquiterpene Compounds", *Zeitschrift Für Naturforschung*, (2004), 59:791-796.
- 247 **JOSE ABAD M.J., ANSUATEGUI M. and BERMEJO P.**, "Active Antifungal Substances from Natural Sources", *Arkivoc*, (2007), 7:116-145.
- 248 **ALVES-SILVA J.M., ZUZARTE M., GONÇALVES M.J., CAVALEIRO C., CRUZ M.T., CARDOSO S.M. and SALGUEIRO L.** "New Claims for Wild Carrot (*Daucus carota* subsp. *carota*) Essential Oil", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (2016), 1-10.
- 249 **DIB M.E.A., DJABOU N., DESJOBERT J.M., ALLALI H., TABTI B. and MUSELLI A.**, "Characterization of Volatile Compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as alternative technique to Hydrodistillation", *Chemistry Central Journal*, (2010), 4(16):1-15.
- 250 **MELIANI N., DIB M.E.A., ALLALI H. and TABTI B.**, "Comparative Analysis of Essential Oil Components of Two *Daucus* Species from Algeria and their Antimicrobial Activity", *International Research Journal of Biological Sciences*, (2013), 2(1):22-29.
- 251 **YOUSEFBEYK F., GOHARI A.R, SOURMAGHI M.H.S., AMINI M., JAMALIFAR H., AMIN M., GOLFAKHRABADI F., RAMEZANI N. and AMIN G.**, "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Different Parts of *Daucus littoralis* Smith subsp. *hyrcanicus* Rech. f." *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, (2014), (17):570-576.
- 252 **VALENTE J., RESENDE R., ZUZARTE M., GONÇALVES M., LOPES M., CAVALEIRO C., PEREIRA C., SALGUEIRO L. and CRUZ M.T.** "Bioactivity and Safety Profile of *Daucus carota* subsp. *maximus* Essential Oil", *Industrial Crops and Products*, (2015), 77:218-224.
- 253 **BHASKARA-REDDY M., ANGERS P. and GOSSENLIN A.**, "Characterization and Use of Essential Oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in Strawberry Fruits", *Phytochemistry*, (1998), 47(8):1515-1520.
- 254 **RASOOLI I., and OWLIA P.**, "Chemoprevention by Thyme Oils of *Aspergillus parasiticus* Growth and Aflatoxin Production", *Phytochemistry*, (2005), 66:2851-2856.

- 255 **BEHIDJ N., BENYOUNES K., DAHMANE T. and ALLEM A.**, "Effectiveness of the Flavonoids Isolated from *Thymus inodorus* by Different Solvents against Some Pathogenic Microorganisms", *Sciences & Technologies C*, (2017), 43:9-14.
- 256 **BEHIDJ-BENYOUNES N., DAHMANE T., BOUMGHAR N., MEKHAZENI I. and TAKI L.**, "Antimicrobial Effect of Different Organic and Aqueous Extracts from a Lamiaceae, *Thymus numidicus* Harvested in Bouira (Algeria)", 17<sup>th</sup> International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM, (2017),17(32):711-716.
- 257 **HADDOUCHI F., LAZOUNI HA., MEZIANE A. and BENMANSOUR A.**, "Etude Physicochimique et Microbiologique de l'Huile Essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut", *Afrique SCIENCE*, (2009), 05(2):246-259.
- 258 **BEKTAS E., DAFERERA D., SÖKMEN M., SERDAR G., ERTÜRK M., POLISSIOU M.G. and SOKMEN A.**, "*In vitro* Antimicrobial, Antioxidant, and Antiviral Activities of the Essential Oil and Various Extracts from *Thymus nummularis* M. Bieb.", *Indian Journal of Traditional Knowledge* (2016), 15(3):403-410.
- 259 **EL OUALI LALAMI A, EL-AKHAL F., OUEDRHIRI W., OUAZZANI CHAHDI F., GUEMMOUH R. et GRECHE H.**, "Composition Chimique et Activité Antibactérienne des Huiles Essentielles de Deux Plantes Aromatiques du Centre Nord Marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioïdis*", *Les Technologies de Laboratoire*, (2013), 8:(31):27-33.
- 260 **YAKHLEF G., LAROUÏ S., HAMBABA L., ABERKANE M.C. et AYACHI A.**, "Évaluation de l'Activité Antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, Plantes Utilisées en Médecine Traditionnelle", *Phytothérapie* (2011), 9:209.
- 261 **AMARTI F., SATRANI B., GHANMI M., FARAH A., AAFI A., AARAB L., EL AJJOURI M. et CHAOUCH A.**, "Composition Chimique et Activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc", *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* (2010), 14(1):141-148.
- 262 **SEGVIC-KLARIC M., KOSALEC I., MASTELIC J., PIECKOVA E. and PEPELJNAK S.**, "Antifungal Activity of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oil and Thymol against Moulds from Damp Dwellings", *Letters in Applied Microbiology*, (2007), 44:(1):36-42.
- 263 **DE MAN P., VERHOEVEN B., VERBRUGH H., VOS M. and VAN DEN ANKER J.**, "An antibiotic Policy to Prevent Emergence of Resistant Bacilli", *The Lancet*, (2000), 18:355(9208):973-978.
- 264 **SHAN J., FU J., ZHAO Z., KONG X., HUANG H., LUO L. and YIN Z.**, "Chlorogenic Acid Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Cyclooxygenase-2 Expression in RAW264. 7 Cells Through Suppressing NF-κB and JNK/AP-1 Activation", *International Immunopharmacology*, (2009), 9:1042-1048.

- 265 **CUSHNIE T.T. and LAMB A.J.**, "Antimicrobial Activity of Flavonoids", *International Journal of Antimicrobial Agents*, (2005), 26:343-356.
- 266 **JIMENEZ-GONZALEZ L., ÁLVAREZ-CORRAL M., MUÑOZ-DORADO M. and RODRIGUEZ-GARCIA I.**, "Pterocarpan, Interesting Natural Products with Antifungal Activity and other Biological Properties", *Phytochemistry Reviews*, (2008), 7(1):125-154.
- 267 **GRAYER R.J. and, HARBORNE J.B.**, "A Survey of Antifungal Compounds from Higher Plants, 1982–1993", *Phytochemistry*, (1994), 37(1):19-42.
- 268 **BYSTRICKA. J., KAVALCOVÁ P., MUSILOVÁ J, VOLLMANNOVÁ A., TOMAS T. and LENKOVÁ M.**, "Carrot (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* (Hoffm.) Arcang.) as Source of Antioxidants", *Acta agriculturae Slovenica* (2015), 105:303-311.
- 269 **DIB M.E.A., DJABOU N, ALLALI H, PAOLINI J, TABTI B, COSTA J, and MUSELLI A.**, "Chemical Composition of Essential Oils and Hydrosol Extracts of *Daucus muricatus* and Assessment of Its Antioxidant Activity", *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, (2015), 21(1):23-37.
- 270 **CHATATIKUN M. and CHIABCHALARD A.**, "Phytochemical Screening and Free Radical Scavenging Activities of Orange Baby Carrot and Carrot (*Daucus carota* Linn.) Root Crude Extracts", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, (2013), 5:97-102.
- 271 **DANDLEN S.A., LIMA A.S., MENDES M.D., MIGUEL M.G., FALEIRO M.L., SOUSA M.J., PEDRO L.G., BARROSO J.G. and FIGUEIREDO A.C.**, "Antioxidant Activity of Six Portuguese Thyme Species Essential Oils", *Flavour and Fragrance Journal*, (2010), 25:150-155.
- 272 **ALBANO S.M. and MIGUEL M.G.**, "Biological Activities of Extracts of Plants Grown in Portugal", *Industrial Crops and Products*, (2011), 33(2):338-343.
- 273 **GIWELI A., DZAMIC A., SOKOVIC M., RISTIC M. and MARIN P.**, "Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil of *Thymus algeriensis* Wild Growing in Libya", *Open Life Sciences*, (2013), 8:504-11.
- 274 **AL FATIMI M., WURSTER M., SCHRÖDER G. and LINDEQUIST U.**, "*In vitro* antimicrobial, cytotoxic and radical scavenging activities and chemical constituents of the endemic *Thymus laevigatus* (Vahl)", *Records of Natural Products*, (2010), 4(1):49:63.
- 275 **BALLESTER-COSTA C., SENDRA E., FERNANDEZ-LOPEZ J., PEREZ-ÁLVAREZ J.A. and VIUDA-MARTOS M.**, "Chemical Composition and *in vitro* Antibacterial Properties of Essential Oils of Four Thymus Species from Organic Growth", *Industrial Crops and Products*, (2013), 50:304-311.
- 276 **KINDL M., BLAZEKOVIĆ B., BUCAR F. and VLADIMIR-KNEZEVIĆ S.**, "Antioxidant and Anticholinesterase Potential of Six Thymus Species",

Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, (2015), 2015:10.

- 277 **SOARES J.R., DINIS T.C., CUNHA A.P. and ALMEIDA L.**, "Antioxidant Activities of Some Extracts of *Thymus zygis*", Free Radical Research, (1997), 26(5):469-478.