

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة سعد دحلب البليدة (1)  
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie et agro-écologie  
**Mémoire de fin d'études**  
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV  
Filière : Sciences Agronomiques

Option : Phytopharmacie et protection des végétaux

## Thème

**Évaluation de l'efficacité de l'huile essentielle du thym (*Thymus vulgaris*) comme biocide**

**Présenté par :**

**Soutenu le : 13/07/2023**

- Allaoui yasmine
- Benaliouat ikrame
- Fodili fatma zahra

**Devant le jury :**

Nom

Grade/Lieu

Qualité

Mme Kheddar. R

MCB /USDB1

Présidente

Mme Ayadi. R

MCA/USDB1

Examinatrice

Mme Amara. N

MCA/USDB1

Promotrice

**Année universitaire : 2022/2023**

## *REMERCIEMENTS*

*Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude infinie envers Dieu, le Tout-Puissant et Miséricordieux, pour nous avoir accordé la force et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons nos profonds respects et toute notre gratitude à notre promotrice Madame Amara, N pour avoir accepté de nous encadrer tout au long de cette année, pour ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Nous nous adressons également nos sincères remerciements à Mme Kheddar, R Qui nous fait l'honneur de présider le jury et Mme Ayadi, R Qui nous fait l' honneur d'apprécier et de juger ce travail.*

*Nous tenons aussi à exprimer mes sincères remerciements à Tous les enseignants qui nous ont enseigné et qui par leurs Compétences nous ont soutenus dans la poursuite de nos Études.*

*Nous remercions la noble famille d'enseignants du département de Biotechnologie et Agroécologie, Nos remerciements vont également à tous nos collègues phytopharmacie et protection des végétaux.*

*Un très grand merci est adressé à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, que ce soit de manière directe ou indirecte, à la réalisation de ce travail*

## DÉDICACE



*Nous exprimons une profonde gratitude et adressons des mots sincères en dédiant humblement ce travail de fin d'étude à nos estimés parents, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et éclairé notre parcours par leurs précieux conseils. Nous aspirons à pouvoir, un jour, leur rendre ne serait-ce qu'une infime partie de ce qu'ils ont accompli pour nous, tandis que nous prions pour que Dieu les comble de bonheur et leur accorde une longue vie.*

*Nous souhaitons également dédier ce travail à nos chers frères et sœurs, à nos familles, à nos amis et à tous ceux qui nous sont chers.*



# Évaluation de l'efficacité de l'huile essentielle du thym (*Thymus vulgaris*) comme biocide

## Résumé

Cette étude s'inscrit, dans le cadre de l'utilisation et de la valorisation d'huile essentielle (HE) de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* récolté dans la région de Hammam Mélouane Blida.

Ce travail a pour objectifs, de caractériser la composition chimique d'HE de *Thymus vulgaris* et d'évaluer son activité bio-insecticide contre trois ravageurs redoutables des cultures et des plantes ornementales : *Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola* et *Aphis fabae*.

L'HE de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* extraire par la technique d'hydro-distillation, a été analysée sur un Chromatographe en Phase Gazeuse couplé à un spectromètre de Masse (CG-SM). L'activité de l'HE a été appréciée par la technique de toxicité par contact. Quatre doses d'HE formulées dose 1 D1 (100 µl/ml), dose 2 D2 (150 µl/ml), dose 3 D3 (200 µl/ml) et dose 4 D4 (250 µl/ml) ont été appliquées sur les feuilles infestées de clémentinier et de laurier rose comparé au témoin positif.

L'HE a fourni un rendement d'extraction de 0.38%. L'analyse chimique de l'HE a divulgué la présence de deux composés majoritaires qui sont : linalol (39,07 %) et β-linalool (27,58 %).

L'évaluation de l'effet insecticide d'HE de *Thymus vulgaris* contre les trois ravageurs adultes, montre une efficacité remarquable. Au bout de 48h d'exposition, le taux de mortalité moyenne corrigée pour les populations d'*Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola* et *Aphis fabae* varie entre 81,81±0.06 % et 100±0%, 61,89±0,16% et 100±0%, 82,14±0,06% et 100±0% respectivement.

D'après les résultats obtenus l'HE formulée de *Thymus vulgaris* constitue une bonne alternative aux produits de synthèses et sans risque pour l'environnement.

**Mots clés :** *Thymus vulgaris* ; huile essentielle ; activité biocide ; ravageurs, CG-SM.

# Assessment of the Effectiveness of Thyme Essential Oil (*Thymus vulgaris*) as a Biocide

## Abstract

This study focuses on the use and valorization of essential oil (EO) from the aerial parts of *Thymus vulgaris* harvested in the Hammam Mélouane Blida region.

The objectives are to characterize the chemical composition of *Thymus vulgaris* EO and evaluate its bio-insecticidal activity against three major pests of crops and ornamental plants: *Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola*, and *Aphis fabae*.

The essential oil (EO) from the aerial parts of *Thymus vulgaris*, extracted using the hydro-distillation technique, was analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The activity of the EO was assessed using the contact toxicity technique. Four EO formulations, namely D1 (100  $\mu\text{l/ml}$ ), D2 (150  $\mu\text{l/ml}$ ), D3 (200  $\mu\text{l/ml}$ ), and D4 (250  $\mu\text{l/ml}$ ), were applied to infested leaves of clementine and oleander compared to the positive control.

The EO provided an extraction yield of 0.38%. Chemical analysis of the EO revealed the presence of two major compounds, linalool (39.07%) and  $\beta$ -linalool (27.58%). The insecticidal effect of *Thymus vulgaris* EO against the three adult pests showed remarkable efficacy. After 48 hours of exposure, the corrected average mortality rate for populations of *Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola*, and *Aphis fabae* ranged between 81.81 $\pm$ 0.06% and 100 $\pm$ 0%, 61.89 $\pm$ 0.16% and 100 $\pm$ 0%, and 82.14 $\pm$ 0.06% and 100 $\pm$ 0%, respectively.

Based on the results obtained, the formulated EO from *Thymus vulgaris* represents a good alternative to synthetic products and is environmentally safe.

**Keywords:** *Thymus vulgaris*; essential oil; biocidal activity; pests; GC-MS.

## تقييم فعالية زيت الزعتر الأساسي (الزعتر العادي) كمادة حيوية

### الملخص

تركز هذه الدراسة على استخدام وتثمين زيت الأساسي (HE) من الأجزاء الهوائية لنبات الزعتر (*Thymus vulgaris*) المحصود في منطقة حمام ملوان البلدية .

الأهداف تتمثل في توصيف التركيب الكيميائي لزيت الأساس من الزعتر العادي وتقييم نشاطه الحيوي مضاد للحشرات ضد ثلاث آفات رئيسية للمحاصيل والنباتات الزينة *Aphis fabae*، *Aphis spiraeicola*، *Aphis nerii* .

تم استخلاص زيت الزعتر الأساسي (HE) من الأجزاء الهوائية لنبات *Thymus vulgaris* باستخدام تقنية التقطير بالماء، باستخدام كروماتوغرافيا الغاز - الطيف الكتلي (GC-MS). تم تقييم نشاط زيت الزعتر الأساسي باستخدام تقنية السمية عن طريق الاتصال. تم تطبيق أربع تراكيز مختلفة من زيت الزعتر الأساسي، وهي D1 (100 ميكرو لتر/مل)، D2 (150 ميكرو لتر/مل)، D3 (200 ميكرو لتر/مل)، و D4 (250 ميكرو لتر/مل) على أوراق نبات الكليمنتين ونبات الدفلى المصابة مقارنة بالسيطرة الإيجابية.

زيت الأساسي ساهم بنسبة استخلاص قدرها 0.38%. كشف التحليل الكيميائي لزيت الأساسي عن وجود مركبين رئيسيين هما اللينالول (39.07%) والبيتا-لينالول (27.58%).

أظهر الفعالية المبيدة لزيت الأساسي من الزعتر العادي ضد الآفات البالغة ثلاثة مستويات مذهلة. بعد 48 ساعة من التعرض، تراوح معدل الوفيات المعدلة المتوسطة لسكان *Aphis nerii* و *Aphis spiraeicola* و *Aphis fabae* بين 81.81 ± 0.06% و 100 ± 0.06%، و 61.89 ± 0.16% و 100 ± 0.06%، و 82.14 ± 0.06% و 100 ± 0.06% على التوالي .

بناءً على النتائج الدراسة، يمثل زيت الأساس المصاغ من الزعتر العادي بديلاً جيداً للمنتجات الاصطناعية وأمنًا بيئيًا.

**الكلمات المفتاحية:** *Thymus vulgaris*؛ زيت أساسي؛ نشاط مبيد للحشرات؛ آفات؛ GC-MS

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Classification taxonomique de <i>Thymus vulgaris</i>	5
2	Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles	9
3	Taxonomie systématique des pucerons	19
4	Rendement l'HE de thymus vulgaris on pourcentage	29
5	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>thymus vulgaris L</i>	28
6	Composition chimique d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris L</i>	29
7	G.L.M. appliqué aux l'HE formulée <i>Thymus vulgaris</i> (4 doses) à base de l'ensemble d'espèce du puceron <i>Aphis nerii</i> , <i>Aphis spiraeicola</i> et <i>Aphis fabae</i>	32
8	Doses létales qui tuent 50% et 90% des trois espèces pucerons traités	38

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris L</i>	6
2	Modes d'extraction des huiles essentielles	9
3	Montage d'extraction par la technique d'hydrodistillation	10
4	Montage Entraînement à la vapeur d'eau	11
5	Dispositif d'extraction assistée par micro-ondes	12
6	Échantillon de <i>Thymus vulgaris L</i>	16
7	Localisation des secteurs du Parc de Chréa	17
8	Puceron jaune de laurier rose <i>Aphis nerii</i> et lieu de prélèvement	18
9	Puceron vert d'agrumes <i>Aphis spiraeicola</i> et lieu de prélèvement	18
10	Puceron noir d'agrumes <i>Aphis fabae</i> et lieu de prélèvement	18
11	Dispositif d'extraction d'HE de <i>Thymus vulgaris</i> de type « Alambic »	20
12	Méthode de séparation d'HE et de l'hydrolat de <i>Thymus vulgaris L</i>	21
13	Formulation liquide de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i> et solutions témoins	23
14	Dispositif expérimental des essais par contact de l'HE de <i>thymus vulgaris</i> contre <i>Aphis nerii</i> et puceron noir <i>Aphis fabae</i> et vert <i>Aphis spiraeicola</i>	24
15	Pourcentage de mortalité corrigée des pucerons <i>Aphis nerii</i> , <i>Aphis spiraeicola</i> et <i>Aphis fabae</i> , selon la formule d'Abbott	31
16	Mortalité corrigée comparée des 3 espèces d'Aphis à l'égard des différentes doses de l'huile essentielle <i>Thymus vulgaris</i> (Après 1h, 3h, 6h, 12h, 24h et 48h). (G.L.M)	33
17	Corrélation entre les doses utilisées et la durée de traitement l'HE <i>thymus vulgaris</i> contre <i>Aphis nerii</i> , <i>Aphis spiraeicola</i> et <i>Aphis fabae</i> (ACP/PAST)	35
18	Droites de régression exprimant le taux de mortalité DL 50% et 90% des <i>Aphis nerii</i> dans 24 et 48 heures.	37
19	Droites de régression exprimant le taux de mortalité DL 50% et 90% des <i>Aphis spiraeicola</i> dans 24 et 48 heures.	37
20	Droites de régression exprimant le taux de mortalité DL 50% et 90% des <i>Aphis fabae</i> dans 24 et 48 heures	38



## Liste des abréviations

**ACP** : Analyse en composant principal

**D** : Dose

**DL** : Dose létale

**DL 50 %** : Dose létale pour 50% des individus

**DL 90 %** : Dose létale pour 90% des individus

**G.L.M** : Modèle général linéaire

**HE** : huile essentielle

**HR** : Humidité relative

**I.N.P.V** : Institut National de la Protection des Végétaux

**Log** : Logarithme

**MC%** : Pourcentage de mortalité corrigée.

**PAM** : Plante aromatique et médicinale

**R** : Répétition

**Rd (%)** : Rendement en pourcentage

**T** : Témoin

Résumés

## Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

### Chapitre I : synthèse bibliographique

I. Généralités sur <i>Thymus vulgaris</i> .....	4
I.1. Origine et historique.....	4
I.2. Classification et noms vernaculaires.....	5
I.3. Description botanique.....	5
I.4. Exigences pédoclimatiques.....	6
I.4.1. Exigences de <i>Thymus vulgaris</i> en climat et en terrain.....	6
I.4.2. Exigences et préparation du terrain pour <i>Thymus vulgaris</i> .....	6
I.5. Répartition géographique.....	7
I.5.1 Dans le monde.....	7
I.5.2. En Algérie.....	7
I.6. Usages et propriétés thérapeutiques de <i>Thymus vulgaris</i> .....	7
I.7. Huile essentielle.....	8
I.7.1. Définition.....	8
I.7.2. Localisation des huiles essentielles.....	8
I.7.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	9
I.7.3.1. Hydrodistillation.....	9

I.7.3.2. Entrainement à la vapeur d'eau.....	10
I.7.3.3. Extraction assistée par micro-ondes.....	11
I.7.4. Composition chimique des huiles essentielles.....	12
I.7.4.1. Terpènes et terpénoïdes.....	12
I.7.4.2. Compose aromatique.....	13
I.7.5. Rôle des huiles essentielles.....	13
I.7.6. Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	14
I.7.6.1. Composition chimique.....	14
I.8. Utilisation de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	14

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>II.1 Matériel et méthodes.....</b>	<b>16</b>
II.1. Matériel.....	16
II.1.1 Matériel biologique.....	16
II.1.1.1. Matériel végétal.....	16
II.1.1.2 Matériel animal.....	17
II.1.2. Matériel non biologique.....	19
II.2. Méthodes.....	19
II.2.1. Echantillonnage.....	19
II.2.2. Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> .....	19
II.2.2.1. Principe.....	19
II.2.2.2. Mode opératoire.....	20
II.2.2.3. Calcul du rendement.....	21

II.2.2.4. Caractéristiques organoleptiques.....	22
II.2.3. Analyse de la composition chimique d'HE par CG-MS.....	22
II.2.4. Conditions opératoires.....	22
II.2.5. Formulation liquide d'HE de la partie aérienne de <i>Thymus vulgaris</i> .....	22
II.2.6. Dispositif expérimental.....	23
II.2.6.1. Préparation des dilutions.....	23
II.2.6.2. Réalisation des essais.....	24
II.2.6.3. Exploitation des résultats.....	25
II.2.7. Analyse statistique.....	26
II.2.8. Calcul des DL50.....	26

### **Chapitre III : résultats et discussion**

II.3.1. Résultats.....	28
II. 3.1. Rendement l'huile essentielle.....	28
II.3.1.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>thymus vulgaris l</i> ....	28
II.3.2. Composition chimique d'HE par CG-MS.....	28
II.3.3. Évaluation de la moyenne de la mortalité observées.....	30
II.3.3.1. Évaluation de la moyenne mortalité corrigée.....	31
II.3.3.2. Les analyses statistiques.....	32
II 3.3.2.1. L'analyse statistique G.L.M (General Linear Model) .....	33
II.3.3.2.2. L'analyse statistique ACP.....	34
II.3.3.3. Calcule des doses létales DL50 DL90.....	36
II.4. Discussion.....	39
<b>Conclusion.....</b>	<b>43</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>45</b>

---

# **Introduction**

---

## Introduction

Les plantes aromatiques et médicinales (PAM), jouent un rôle économique de premier plan dans divers secteurs industriels tels que l'agroalimentaire, la parfumerie, les cosmétiques et la pharmacie. Leur importance est considérable tant du point de vue économique que commercial. (Bruneton ,1999).

Les extraits de plantes prennent différentes formes pour divers produits, parmi lesquels les plus importants sont les tisanes, les gélules végétales, les suspensions de plantes fraîches et les huiles essentielles (HEs), qui jouent un rôle crucial dans le domaine environnemental en tant que biopesticides. Une sonnette d'alarme tirée par des organisations environnementales concerne l'élimination des pesticides chimiques de synthèse en raison de leurs graves effets néfastes sur la santé des organismes et la biosphère. (Benayad, 2013).

Selon Crosby, (1966), L'utilisation d'extraits de plantes comme insecticides est une pratique bien établie. En effet, des substances telles que le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont depuis longtemps reconnues comme des agents antiparasitaires.

Les HEs, représentent une source inépuisable, de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent (Lafon, 1988). Ces derniers leur ont attribué l'utilisation dans la lutte biologique contre les ravageurs. En effet, ces biopesticides présentent un réel avantage par rapport aux produits phytosanitaires, qui comportent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement. Les biopesticides à partir des HEs, sont caractérisés par leur faible rémanence, leur faible toxicité pour l'homme et par leur mode d'action sur les ravageurs (Miresmailli et *al.*, 2006 ; Koul et *al.*, 2008 ; Shahi et *al.*, 2009).

Dans ce contexte, et pour la recherche relative à la valorisation du potentiel aromatique des plantes spontanées de la région de Blida (Hammam Melouane), nous nous sommes intéressées à l'étude phytochimique et biologique de l'HE de thym *Thymus vulgaris* formulée. Le présent travail vise à évaluer l'effet biocide d'HE formulée de *Thymus vulgaris* sur trois espèces de pucerons et

de déterminer sa composition chimique et son chémotype. À l'issue de cette étude quelques questions parviennent à l'esprit :

- ✓ Quel serait l'impact de la formulation liquide à base d'HE et leur mode d'application direct sur les populations adultes des trois espèces de pucerons ?
- ✓ Les HEs formulées en question appliquées à différentes doses présentent-elles la même efficacité dans le temps ?

Notre travail se divise en trois parties :

- ✚ La première partie est une synthèse bibliographique qui englobe des généralités sur *Thymus vulgaris* et huile essentielle.
- ✚ La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale pour évaluer l'effet biocide de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* : matériel utilisé et les méthodes adoptées.
- ✚ La troisième partie traite les résultats obtenus. Nous avons terminé par une discussion générale des résultats. En fin une conclusion qui résume l'essentielle de l'étude accompagnée par des perspectives.

---

**Chapitre I**

**Synthèse Bibliographique**

---



## **I.1. Généralités sur *Thymus vulgaris***

### **1.1. Origine et historique**

Le thym vient du grec thumon, qui signifie « offrande » (brûler) et « parfum », en raison de l'odeur agréable que la plante dégage à l'état naturel ou lorsqu'elle est brûlée. Les Égyptiens et les Étrusques utilisaient du thym mélangé à des pommades pour embaumer les morts. Les Grecs croyaient que la plante était une source de courage en la brûlant sur les autels des dieux, sur les places publiques et devant les manoirs. Ils en mettent aussi dans leurs assiettes. Le thym était également largement utilisé comme parfum stimulant, qu'ils versaient dans leurs bains ou se frottaient sur le corps. La légende raconte que Paris a kidnappé Bella Helen, et la princesse était très triste : pour chaque larme qui tombait de son œil au sol, une grappe de thym poussait (Kitajima et *al.*, 2004).

La région de la Méditerranée occidentale est considérée comme le centre d'origine du genre *Thymus*. L'espèce *Thymus vulgaris* est notamment originaire du Sud de l'Europe, de l'Espagne et d'Italie. Ainsi, les symboles végétaux du courage ont persisté tout au long du Moyen Âge, notamment pendant les croisades. Les sorcières fabriquaient des philtres d'amour à partir de fleurs de marjolaine, de thym, de verveine et de myrte. Il était également placé sous l'oreiller (car il favorise le sommeil en chassant les cauchemars et la dépression). Dans le langage des fleurs, le thym est un symbole de courage, d'amour durable, d'esprit créatif, de vitalité et de résistance physique (Amiot, 2005).

Le *Thymus vulgaris* se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin et beaucoup d'autres plantes sauvages (Kaloustian et *al.*, 2003).

## 1.2. Classification et noms vernaculaires

La classification taxonomique de *Thymus vulgaris* L. est donnée dans le (Tableau 1) (Goetz et Ghédira, 2012).

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghédira, 2012)

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

Les noms communs des espèces de thym sont les suivants :

- ✚ **Arabe** : saatar, zaatar (en arabe صعتر ou عتر ز)
- ✚ **Français** : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule et barigoule.
- ✚ **Anglais** : common thym, garden thym (Teuscher et *al.*, 2005)

## 1.3. Description botanique

Cette plante en forme de lèvre très aromatique développe une végétation sous-arbustive dont la hauteur dressée la plus courante est de 10 à 40 cm. Les feuilles sont linéaires ou étroitement lancéolées avec des marges recourbées et varient en taille. La face supérieure est ponctuée, glanduleuse, verte à gris-bleu et la face inférieure est poilue et blanche. Les branches fleuries ont des inflorescences en têtes ou en verticilles. Les fleurs sont roses ou blanc rosé, fleurissent d'avril à juillet et varient en taille selon le sexe. Le thym dioïque comprend des individus avec des fleurs hermaphrodites ou mâles fertiles, qui sont généralement plus grandes et des individus avec des fleurs mâles stériles, qui sont généralement plus petites et de couleur plus vive (Figure 1) (Assouad, 1972).

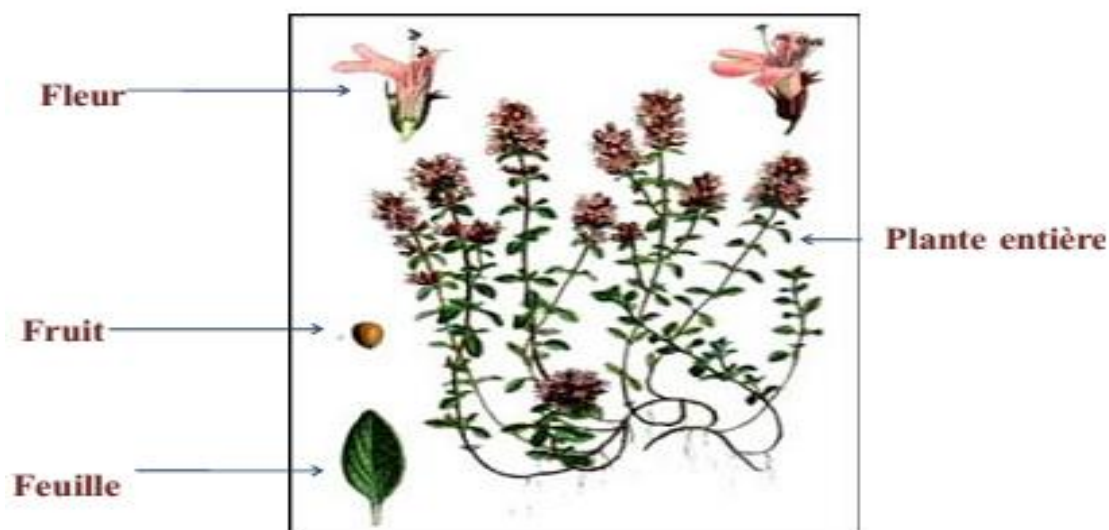


Figure 1 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin, 2001).

## 1.4. Exigences pédoclimatiques

### 1.4.1. Exigences de *Thymus vulgaris* en climat et en terrain

*Thymus vulgaris* est une plante vivace et rustique. Dans certains cas, elle peut même résister au climat glacial de la Sibérie. Elle est cultivée industriellement dans plusieurs pays (Russie, Pologne, Suisse, Maroc, Espagne, Iran, Egypte, Afrique du Sud...) aux conditions climatiques variables. Cependant, les rendements les plus élevés se trouvent dans les pays au climat méditerranéen, c'est-à-dire dans les pays à fort ensoleillement et à longue saison de croissance (Espagne, France et Maroc). Cette plante a besoin de soleil direct et aime un climat chaud et modérément sec avec des hivers doux et des étés ensoleillés. Elle prospère là où les températures moyennes sont de 20 à 30°C au printemps et au début de l'été. Une température du sol supérieure à 18°C favorise la croissance et la régénération post-récolte (Morales, 2002).

### 1.4.2. Exigences et préparation du terrain pour *Thymus vulgaris*

*Thymus vulgaris* peut pousser dans un sol bien drainé. Elle peut supporter un pH compris entre 5 et 8. Les meilleurs rendements sont généralement obtenus dans des sols calcaires légers avec un pH proche de 7 et bien drainés. Le drainage est très important car les plantes souffrent souvent de pourriture des racines (Morales, 2002).

## 1.5. Répartition géographique

### 1.5.1. Dans le monde

Le thym est distribué en Europe, en Asie occidentale et en Méditerranée (Mabberley, 1997). Il est largement distribué dans le Nord-Ouest de l'Afrique (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), dans les montagnes d'Éthiopie et dans le Sud-Ouest de l'Arabie à travers la péninsule du Sinaï en Égypte. On le trouve également dans la région Macaronésienne (Canaries, Madère et Açores) et dans l'Himalaya. Il peut même atteindre les limites de la région et pousse sous les tropiques et sur les côtes du Nord du Japon, de la Sibérie, du Nord de l'Europe jusqu'au Groenland (Morales, 1997).

La Méditerranée occidentale est considérée comme le centre d'origine du genre *Thymus*. L'espèce *T. vulgaris* vient principalement du Sud de l'Europe de l'Espagne et de l'Italie (Morales, 1997 ; Peter, 2004). Le thym de nos jours est répandu au Portugal, France, Allemagne, Espagne, Italie, Algérie, Maroc, Tunisie, Egypte, Turquie, Chine, Russie, Royaume-Uni, et États-Unis (Figure 2) (Wilson, 2002 ; Raghavan, 2006).

### **1.5.2. En Algérie**

Il existe plus de 300 espèces de thym dans le monde dont 12 se trouvent en Algérie et 9 sont endémiques (Quezel et Santa, 1962). Le thym est commun dans les zones montagneuses et côtières d'Algérie ainsi que dans les lieux arides caillouteux (Poletti, 1988 ; Ali-Delille, 2010).

## **1.6. Usages et propriétés thérapeutiques de *Thymus vulgaris***

*Thymus vulgaris* est l'une des plantes aromatiques les plus appréciées. Ces applications sont très étendues partout dans le monde et concernent la médecine traditionnelle, le secteur alimentaire et agro-alimentaire (Adwan et al., 2006). Le thym est consommé en tisane ou épices (Stahl-Biskup et Sàez, 2002). Le thym a beaucoup de propriétés en médecine populaire, stimulant, antiseptique, sédatif, antitussif, antispasmodique, antibactérien, antioxydant, anti-inflammatoire et antiviral. En plus, Il a des propriétés digestives, expectorantes, vermifuges, diaphorétiques et diurétiques. (Johnson, 1998).

De meilleures propriétés antifongiques que la plupart des agents chimiques utilisés (benzimidazole, diphénylamine, acétate phénylmercurique, diméthylthiocarbamate de zinc, carbendazime, soufre 80% WP) actifs, potentiellement avec une toxicité et un coût inférieur (Kumar et al 2008).

## 1.7. Huile essentielle

### 1.7.1. Définition

D'une manière générale, les huiles essentielles (HE) sont des mélanges odorants comportant de nombreuses molécules, obtenus par entraînement à la vapeur d'eau (hydrodistillation) de matières végétales d'origine botanique spécifiée ou par expression du péricarpe des agrumes, et séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (Huet, 1991).

Les HE sont des mélanges naturels complexes de composés chimiques volatils, qui sont produits par les plantes en tant que métabolites secondaires. Ces composés sont souvent très odorants et sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes dont ils sont extraits. Les HEs sont généralement obtenues par hydrodistillation, (Kalembe, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004).

### 1.7.2. Localisation des huiles essentielles

Les HEs se trouvent presque exclusivement dans les plantes supérieures. Ils sont produits dans le cytoplasme des cellules sécrétoires et sont généralement agrégés dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent situées à ou près de la surface des tissus végétaux et recouvertes par la cuticule. Elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaciaceae ou Asteraceae) ( Oussala et al 2006).

Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (bergamotier, rose.), les sommités fleuries (tagète, lavande.), les feuilles, les racines, les fruits, le bois ou les graines (bois de rose, santal.) (Bruneton 1999 ; Anton et Lobstein 2005). Le Tableau 2, résume la localisation de l'huile essentielle dans les différents organes de la plante selon les espèces.

Tableau 2 : Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles (Echchaoui, 2018).

Organe	Exemples
Feuilles d'angiospermes	Romarin, sauge, menthe
Feuille de gymnospermes	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, Lemon Grass

Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vétiver

### 1.7.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'HE représente de 0,1 à 3 % du poids sec des plantes aromatiques. Une grande variété de méthodes d'extraction est utilisée commercialement pour isoler les HEs à partir du matériel végétal (Figure 3) (Benabdelkader, 2012). Parmi les différents procédés d'extraction nous citerons principalement :

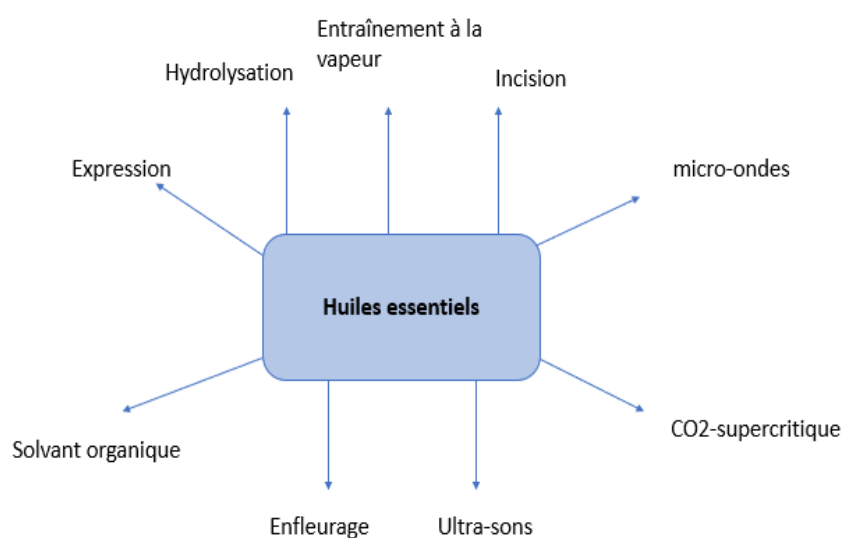


Figure 2 : Modes d'extraction des huiles essentielles (Ouis, 2015).

#### 1.7.3.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est considérée comme la méthode la plus ancienne pour extraire ou séparer certaines substances organiques. Elle a été introduite par les Arabes au IXe siècle. Cette technique est traditionnellement réalisée à l'aide d'un alambic (Bruneton, 1993).

C'est la technique la plus simple et la plus courante, son principe est d'immerger la matière végétale dans l'eau portée à ébullition. Cette opération est généralement conduite sous pression atmosphérique. Le chauffage permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes contenues dans la matière végétale, qui sont entraînées par la vapeur d'eau. Ces derniers sont condensés par un système de réfrigération par courant d'eau. La distillation à plusieurs phénomènes est à la base d'échange de matière entre la phase solide, liquide et vapeur (Figure 4) (Hajji, 1985).

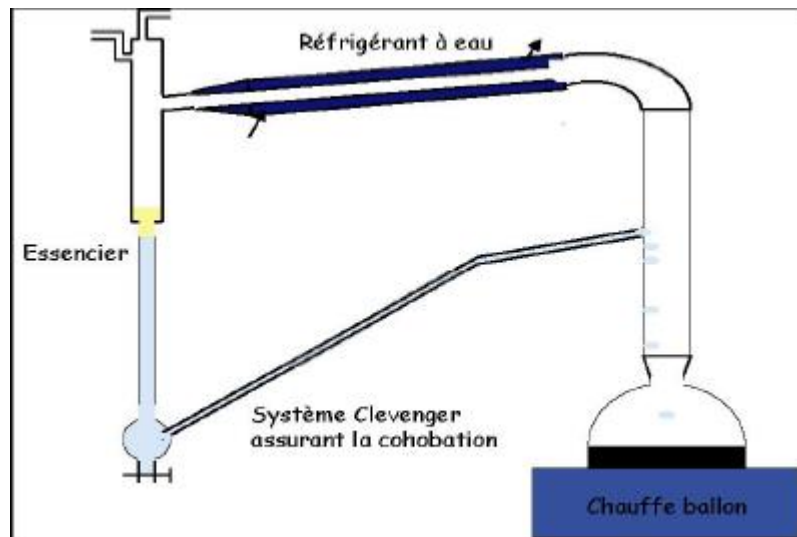


Figure 3 : Montage d'extraction par la technique d'hydrodistillation (Lucchesi ,2005)

### 1.7.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau

La méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau est une méthode reconnue pour extraire les HEs. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique n'implique pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau produite par une chaudière est dirigée à travers la matière végétale, qui est placée sur une grille. Lorsque la vapeur traverse la matière végétale, les cellules éclatent et libèrent ainsi l'HE, qui se mélange avec l'eau pour former un mélange eau et HE. Le mélange est ensuite envoyé au condenseur et à l'essencier où il est séparé en une phase aqueuse et une phase organique (HE). La méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau est avantageuse car elle évite les phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation qui peuvent affecter la qualité d'HE, grâce à l'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale ainsi qu'entre l'eau et les molécules aromatiques (Figure 5) (Lucchesi, 2005).

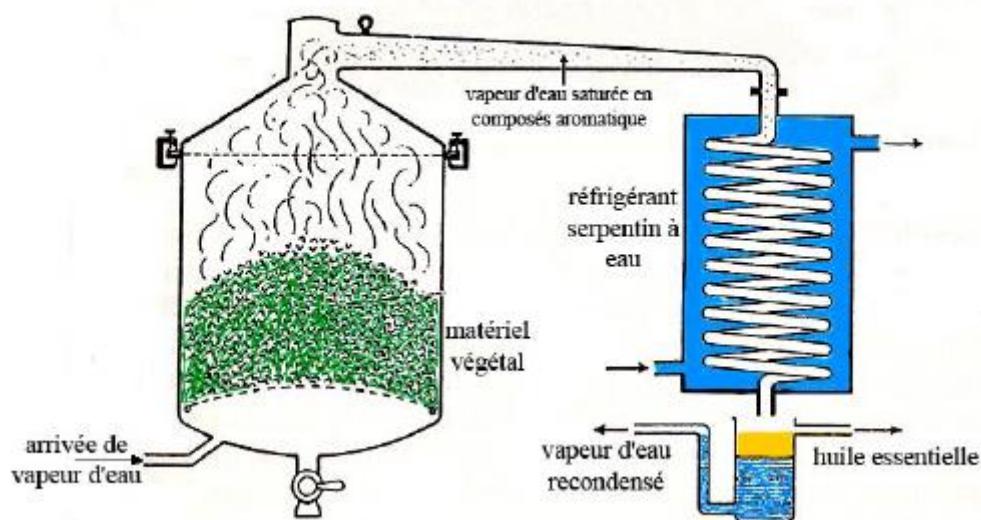


Figure 4 : Montage entrainement à la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005)

### 1.7.3.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique, qui combine l'utilisation des microondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatiles sont entraînés par la vapeur d'eau formé à partir de l'eau propre de la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantation. Des études en démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tel que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Figure 6) (Hemwimon *et al.*, 2007).



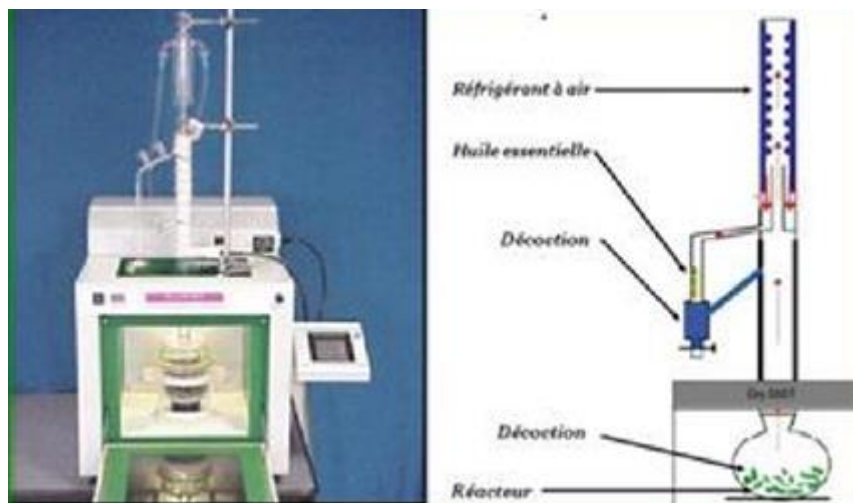


Figure 5 : Dispositif d'extraction assistée par micro-ondes (Boutayeb, 2013).

#### 1.7.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les HEs sont des mélanges complexes de composés chimiques variables, dissous les uns dans les autres pour former des solutions homogènes. Les constituants principaux de ces huiles sont généralement classés en deux groupes distincts, qui sont caractérisés par des origines biogénétiques différentes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Dorosso, 2002). En effet, la composition chimique des HEs est complexe, elle peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques d'une part et la nature de sol d'autre part (Guignard, 2000).

##### 1.7.4.1. Terpènes et terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés comme métabolites secondaires. Leur fractionnement dépend du nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpène ( $C_5$ ), monoterpène ( $C_{10}$ ), sesquiterpène ( $C_{15}$ ) et diterpène ( $C_{20}$ ) (Bruneton, 2004)

##### ➤ Monoterpènes

Il existe plus 900 monoterpènes connus. Ils se répartissent principalement en trois classes structurales, les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. De tels composés possèdent de nombreuses molécules fonctionnalisées :

- ✓ Alcools : acycliques (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol).
- ✓ Aldéhydes : majoritairement acycliques (géraniol, néral et citronellal)

- ✓ Cétones : acycliques (tagétone), monocycliques (menthone, isomenthone, carvone, Menthone), bicycliques (camphre, cumin).
- ✓ Esters : acycliques (acétate de linalyle ou acide propionique, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle), bicycliques (acétate d'isoamyle)
- ✓ Ethers : le 1,8-cinéole (cinéole), les éthers cycliques ou les acides di- et tétrahydropyraniques tétrahydrofurane joueraient un rôle majeur dans les arômes de fruits (linalool ou oxyde de rose). Peroxyde : Ascaridol.
- ✓ Phénoliques : Thymol, Carvacrol (Bruneton, 2004).

➤ Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures ( $C_{15}H_{22}$ ), qui sont les terpénoïdes les plus divers, présents dans une variété de structures sous forme d'hydrocarbures ou d'hydrocarbures oxygénés tels que les alcools, les aldéhydes et les cétones (El Haib, 2011).

#### **1.7.4.2. Composés aromatiques**

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques, représentent un groupe important, car ils sont généralement responsables de propriétés sensorielles des HEs. Un exemple est l'eugénol, qui est responsable des odeurs (clous de girofle) (Chouiteh, 2012).

#### **1.7.5. Rôle des huiles essentielles**

Le rôle biologique des HEs dans la plante n'est pas bien défini. Il est vraisemblable qu'elles aient un rôle écologique (Dorosso Sonate, 2002). Elles permettent entre autres à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Elles ont des propriétés attractives ou répulsives vis-à-vis des prédateurs (herbivores et insectes). Par leurs odeurs, Elles interviennent dans la pollinisation. Ainsi, par leur pouvoir antiseptique, elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et parasites du sol (Kaloustian, 2012).

## **1.7.6. Huile essentielle de *Thymus vulgaris* L**

### **1.7.6.1. Composition chimique**

De nombreuses études ont révélé que, les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intra-spécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produits chimiques (Balladin et Headley, 1999).

L'huile contient des substances phénoliques (20 - 80%) en quantités très variables (Díaz-Maroto et al., 2005) le thymol (30 - 70%) et le carvacrol (3 - 15%) sont les principaux constituants (Kuhn et Winston, 2008). Il contient également des alcools comme le linalol (4 – 6,5 %) et l' $\alpha$ -terpinéol (7,8 – 8,9 %) (Skaria, 2007), des monoterpènes hydrocarbonés comme le p-umbrellane Anthracènes (15 – 20 %) et gamma-terpinènes (5 – 10%). Ces deux derniers sont des précurseurs biogénétiques du thymol et du carvacrol. D'autres monoterpénoïdes sont également présents, mais en très petites quantités (0,5 à 1,5 %), comme le bornéol, le camphre, le limonène, le myrcène, le bêta-pinène, l'hydrate de transsabinène et le terpinène-4-ol (Peter, 2004) . Les sesquiterpènes d'hydrocarbures ne sont pas très importants dans les huiles, seul le  $\beta$ -caryophyllène est quantitativement important (1 à 3 %) (Wichtl, 2004). Certains constituants, tels que le thymol, le carvacrol et le p-cymène, se présentent en partie sous forme de glycosides ou de galactosides ( Takeuchi et al., 2004).

## **1.8. Utilisation de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L**

*Thymus vulgaris* est une des plantes les plus populaires aromatiques utilisées dans le monde entier. Ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et al., 2006). De plus son HE est utilisé dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Jordán et al., 2006). Il est utilisé comme ingrédient dans divers produits pharmaceutiques tels que : les onguents antiseptiques et thérapeutiques, les crèmes, les emplâtres, ainsi que les gouttes, les sirops, les élixirs ou les gélules et les préparations à inhaler pour le traitement des maladies respiratoires (Tiwari et Tandon, 2004).

---

## **Chapitre II**

# **Matériel et méthodes**

---

## II.2 Matériel et Méthodes

### Principe et objective :

Le but de cette étude est de déterminer la composition chimique de l'HE, afin de connaître ses principes actifs qui, sont responsables de l'évaluation dans les conditions de laboratoire de l'efficacité de l'HE formulée du thym *Thymus vulgaris* par contact direct et par ingestion contre les trois espèces de pucerons : *Aphis nirii*, *Aphis fabae* et *Aphis spiraecola*.

Notre travail s'est déroulé pendant une période de deux mois (Mars, avril et Mai 2023). Les différentes expérimentations ont été effectuées au des structures suivantes :

- Laboratoire de Bio.Extrapamal à Oued El Alleug pour l'extraction de l'HE de la partie aérienne (tige, feuille et fleurs) fraîche de *Thymus vulgaris*.
- Laboratoire de Projet de Fin d'Étude (PFE) du département de biotechnologie et agro-écologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) Université Blida 1 pour la formulation de l'HE et l'essai biocide des trois ravageurs.
- Laboratoire du Centre de Recherche d'Analyse Physico-Chimique (CRAPC) Bou Ismaïl Tipaza pour la caractérisation d'HE de *Thymus vulgaris* par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée au Spectromètre de Masse (CG-SM).

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1 Matériel biologique

##### 2.1.1.1. Matériel végétal

La partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) de *Thymus vulgaris* a été récolté en Mars 2023 à une altitude de 236 m à Hammam Melouane Parc National de Chréa (PNC) Blida . La quantité récoltée est de 6,690 kg (Figure 7). La plante a été identifiée par le personnel qualifié du PNC.



Figure 6 : Échantillon de *Thymus vulgaris* L frais (Originale, 2023)

La commune de Hammam Melouane est située au Sud de la wilaya de Blida à environ 30 km de l'Est de Blida et à environ 40 km au Sud d'Alger et à environ 47 km au Nord Est de Médéa. Elle est comprise entre Latitude  $36^{\circ} 19' 12''$  et Longitude  $3^{\circ} 02' 42''$  (Figure 8) (PNC, 2023).

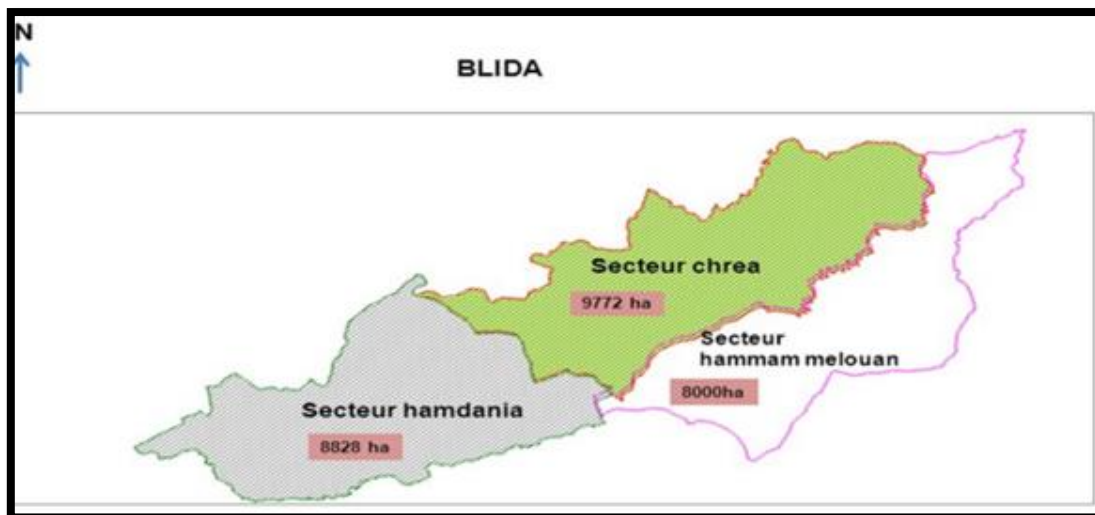


Figure 7 : Localisation des secteurs du Parc de Chréa (PNC, 2023).

### 2.1.2 Matériel animal

Les prélèvements du matériel animal ont été effectués respectivement dans deux parcelles différentes l'une à Montpensier, l'autre au niveau du département de biotechnologie et agro écologie université Saad Dahleb Blida 1 au mois de Mai. Ce bio essai est limité à trois ravageurs : *Aphis nerii*, (puceron jaune) de laurier rose, *Aphis fabae* (puceron noir) et *Aphis spiraeicola* (puceron vert) du clémentinier. Nous avons prélevé 160 insectes de chaque espèce à partir des feuilles infestées. L'identification de ses ravageurs a été faite par l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) de Boufarik (Figure 9, 10, 11).



Figure 8 : Puceron jaune de laurier rose *Aphis nerii* et lieu de prélèvement. (Original, 2023)



Figure 9 : Puceron vert d'agrumes *Aphis spiraecola* et lieu de prélèvement. (Original, 2023)



Figure 10 : Puceron noir *Aphis fabae* et lieu de prélèvement et lieu de prélèvement. (Original, 2023)

Les aphides ou pucerons sont classés comme hémiptères. Ils appartiennent à l'ordre des homoptères, (Fraval., 2006). La famille des Aphididae est classiquement divisée en trois sous-familles les Blatichaitophorinae, les Pterocommatinae et les Aphidinae. Les espèces de la sous-famille des Aphidinae sont réparties entre deux tribus, les Aphidini et les Macrosiphini. (Ortiz-Rivas et Martínez-Torres, 2010). Selon Remaudière et *al.*, (1997) dans leur catalogue intitulé "Les Aphididae du monde", les pucerons sont classés comme suit (Tableau 3).

Tableau 3 : Taxonomie systématique des pucerons (Remaudière et *al.*, 1997).

Embranchement	Arthropode
Classe	Insectes
Ordre	Homoptère
Super /famille	Aphidoidea
Famille	Aphididae

### 2.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique, utilisé pour la réalisation, de notre expérimentation est représenté en annexe.

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Echantillonnage

L'échantillonnage de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) de *Thymus vulgaris* a été retranché au hasard durant le mois de Mars 2023, en début de matinée, par temps ensoleillé et une température de 20°C, pour que le matériel végétal soit le plus frais possible.

### 2.2.2. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

#### 2.2.2.1. Principe

Nous avons procédé à l'extraction d'huile essentielle par la méthode d'hydrodistillation, à l'aide d'un dispositif de type « alambic ». Le montage utilisé est présenté dans la (Figure 12).





1 : Balance    2 : *thymus vulgaris*    3 : matière végétale +l'eau    4 : Alambic  
 5 : Refroidisseur    6 : chaudière à Gaz    7 : Essencier sortie de l'HE +hydrolat

Figure 11 : Dispositif d'extraction d'HE de *Thymus vulgaris* de type « Alambic ».

### 2.2.2.2. Mode opératoire

Nous avons en premier lieu pesé la partie aérienne fraîche de *Thymus vulgaris* récoltée. Cette dernière a été coupée en petits morceaux et introduite directement dans un alambic. Une quantité de 14L d'eau distillée ont été ajoutées à l'ensemble de la masse végétale. Par la suite la préparation est portée à l'ébullition pendant 3h à l'aide d'un chauffage, qui permet l'obtention de la vapeur, qui se charge des produits volatils. Elle se condense et se liquéfie grâce au système de refroidissement. La différence de densité entre l'huile et l'eau permet l'apparition de deux couches distinctes. L'HE obtenue est récupérée et conservée à 4°C à l'obscurité dans un flacon ambré et fermé hermétiquement jusqu'à son utilisation (Figure 13).



1 : HE      2 : Hydrolat    3 : Entonnoir séparateur    4 : Fiole erlenmeyer    5 : Papier aluminium    6 : Robinet de l'entonnoir    7 : Bécher    8 : Flacon ambré d'HE

Figure 12 : Méthode de séparation d'HE et de l'hydrolat de *Thymus vulgaris L.*

### 2.2.2.3. Calcul du rendement

Le rendement en HE est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal utilisé. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$$RHE\% = \frac{MHE}{Mmvf} \times 100$$

Où :

RHE : rendement en huile essentielle en %.

MHE : Masse de l'huile en g.

Mmvf : Masse de matière végétale fraîche en g.

#### **2.2.2.4. Caractéristiques organoleptiques**

Les caractéristiques organoleptiques de l'HE de *Thymus vulgaris* (aspect, couleur et odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'HE.

#### **2.2.3. Analyse de la composition chimique d'HE par CG-MS**

Le couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées dans la chimie analytique. L'intérêt de ce couplage est la séparation des constituants d'un mélange, dans notre cas il s'agit bien d'HE de *Thymus vulgaris*. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables. Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des composés.

#### **2.2.4. Conditions opératoires**

Les analyses chromatographiques de l'HE ont été effectuées sur une chromatographie en phase gazeuse type Hewlett-Packard Agilent (6890) couplé avec un spectromètre de masse type Hewlett Packard Agilent 5973. La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30m x 0.25mm), l'épaisseur du film est de 0.25µm. La température de la colonne est programmée à 60°C pendant 8 min, palier 2°C min<sup>-1</sup> jusqu'à 250°C. Le gaz vecteur est l'hélium pur dont le débit est fixé à 0.5 ml. Min<sup>-1</sup>. Le mode d'injection est le mode split (rapport de fuite : 1/20) avec une valeur d'injection de 0.2µl. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse NIST 98 et piloté par un logiciel « HP ChemStation » permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

#### **2.2.5. Formulation liquide d'HE de la partie aérienne de *Thymus vulgaris***

Nous avons procédé à la formulation liquide d'HE de la partie aérienne de *Thymus vulgaris*, par l'addition d'un ou plusieurs adjuvants, afin de faciliter sa conservation, d'homogénéiser son étalement et son absorption par le substrat. Le protocole de la formulation d'HE a été accompli par notre promotrice enseignante à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) Université Blida 1 (Figure 14).



Figure 13 : Formulation liquide de l'HE de *Thymus vulgaris* et solutions témoins.

## 2.2.6. Dispositif expérimental

### 2.2.6.1. Préparation des dilutions

À partir d'HE de la partie aérienne de *Thymus vulgaris*, nous avons préparé quatre formulations liquides. Les dilutions ont été élaborées de la manière suivante :

- D1 : (100  $\mu$ l HE /100 ml d'eau distillée)
- D2 : (150  $\mu$ l HE /100 ml d'eau distillée)
- D3 : (200  $\mu$ l HE/100 ml d'eau distillée)
- D4 : (250  $\mu$ l HE/100 ml d'eau distillée)

Pour attester la performance de ces formulations à base d'HE, une préparation témoin sans principe actif (c'est à dire sans HE) a été réalisée pour confectionner des dilutions témoins positifs. De ce fait les mêmes doses ont été suggérées pour la formulation témoin positif.

- DT1 : (100  $\mu$ l HE sans matière active/100ml d'eau distillée)
- DT2 : (150  $\mu$ L HE sans matière active /100 ml d'eau distillée)
- DT3 : (200  $\mu$ l HE sans matière active /100ml d'eau distillée)
- DT4 : (250  $\mu$ l HE sans matière active /100ml d'eau distillée)

### 2.2.6.2. Réalisation des essais

Les traitements ont été réalisés au niveau du laboratoire de Projet de Fin d'Étude (PFE) département de biotechnologie et agro-écologie Université Blida 1. L'essai a été poursuivi dans des conditions ambiantes de température comprise entre 26°C et 28°C et d'humidité relative (HR) comprise entre 60 et 80%. Nous avons utilisé 24 boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre pour chaque essai. Ces dernières ont été tapissées par un papier de couleur blanche et perforée à l'aide d'une aiguille, afin de permettre aux pucerons de respirer. Nous avons intégré huit (08) individus de chaque espèce au niveau de chaque boîte de Pétri. Ces pucerons ont été placés sur les feuilles de plante infestées de laurier rose et de clémentinier respectivement. Nous avons ensuite utilisé un vaporisateur pour pulvériser les dilutions préparées sur les pucerons (Figure 14).

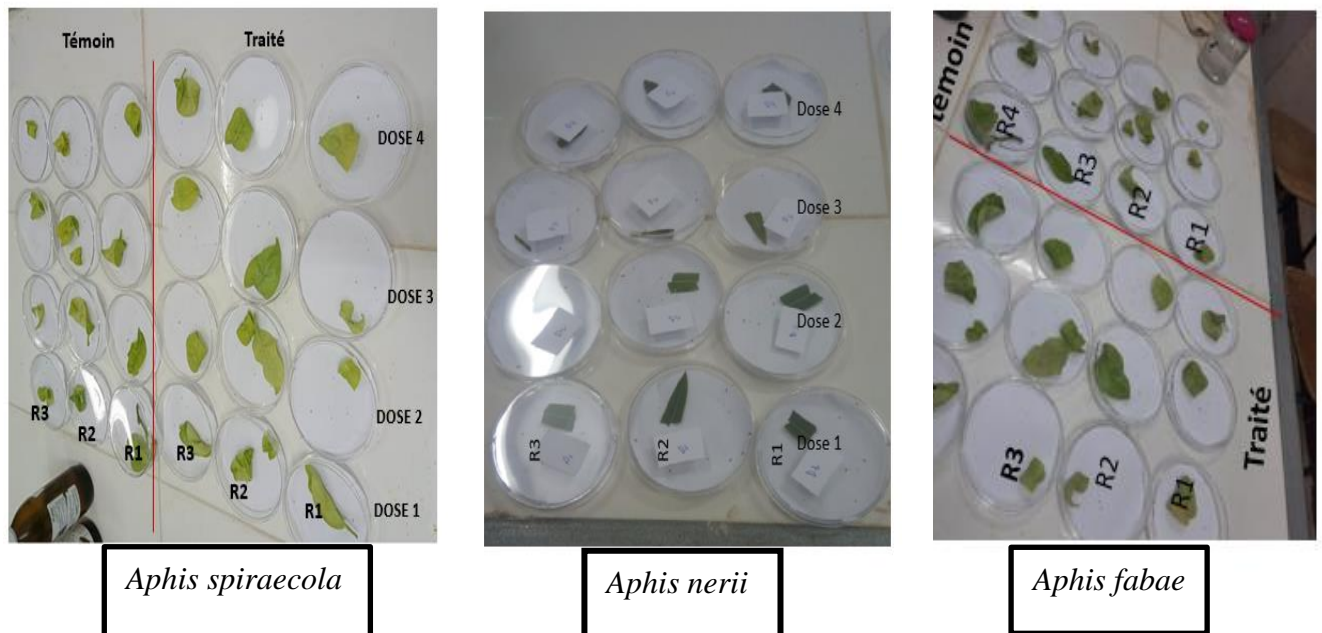


Figure 14 : Dispositif expérimental des essais par contact de l'HE de *Thymus vulgaris* contre puceron vert *Aphis spiraecola*, puceron noir *Aphis fabae* et puceron jaune *Aphis nerii*.

### 2.2.6.3. Exploitation des résultats

#### ➤ Dénombrement

Pour les traitements de la formulation liquide, un dénombrement a été fait à l'aide d'une pince, pour apprécier la mortalité des trois ravageurs : *Aphis nerii*, *Aphis fabae* et *Aphis spiraeicola*. Ces observations ont été réalisées au bout de 48h. C'est à dire après 1h, 3h, 6h, 12h, 24h et 48h pour chaque traitement. Le taux de mortalité de ces trois ravageurs adultes a été estimé en fonction du temps d'exposition et des différentes doses appliquées.

#### ➤ Calcul du pourcentage de mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les individus témoins est calculé par la formule suivante :

$$\text{MO \%} = \text{nombre des individus mort} \div \text{nombre des individus} \times 100$$

#### ➤ Estimation de la mortalité corrigée

L'efficacité de l'huile essentielle est évaluée par la mortalité. Les résultats des tests effectués ne représentent pas uniquement la mortalité causée par l'huile ; mais il y a aussi la mortalité naturelle. Le comptage des adultes morts est réalisé après 1 h, 3h, 6h 12h 24h et 48h, Cette mortalité observée est corrigée par le biais de la formule d'**Abbott (1925)**.

$$\text{Mc\%} = (\text{M} - \text{Mt} / 100 - \text{Mt}) \times 100$$

Où :

MC % : pourcentage de mortalité corrigée

M : pourcentage de morts dans la population traitée

Mt : pourcentage de morts dans la population témoin

### **2.2.7. Analyse statistique**

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SYSTAT version 13. Nous avons déterminé la variance à l'aide du test G.L.M (General Linear Model) et analyse en composant principal (ACP). Les différences ont été considérées comme significatives à  $P < 0,05$ . Pour pouvoir vérifier l'efficacité et la comparaison des formulations testées contre les trois ravageurs adultes, nous avons pris en compte le temps d'exposition et les doses appliquées.

### **2.2.8. Calcul des DL50 et DL90**

L'efficacité d'une substance toxique est évaluée en utilisant sa DL50, qui représente la quantité de substance toxique nécessaire pour provoquer la mort de 50% des individus de la population traitée. Cette valeur est déterminée en utilisant des droites de régression. Pour ce faire, les pourcentages de mortalité corrigés sont convertis en probits, et les doses sont transformées en logarithmes. De ce fait, nous avons procédé au calcul de la DL50 et de la DL90 pour avoir une idée sur la dose létale qui, provoque la mortalité de 50% et 90% des individus de la même espèce.

---

## **Chapitre III**

# **Résultats et discussion**

---



### III.3. Résultats et discussion

#### 3.1. Résultats

##### 3.1.1. Rendement d'huile essentielle

Les premières mesures à effectuer ont consisté à quantifier le rendement de l'extraction d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* obtenue par hydro-distillation en vue de réaliser sa caractérisation chimique et d'évaluer son activité insecticide (Tableau 4).

Tableau 4 : Rendement d'HE de *Thymus vulgaris*

Huile essentielle	Rd (%)
<i>Thymus vulgaris L</i>	0.38%

##### 3.1.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris l*

Les caractéristiques organoleptiques d'HE de *Thymus vulgaris* sont colligées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de *Thymus vulgaris L*

Caractéristiques organoleptiques	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Thymus vulgaris L</i>	Liquide et est mobile	Jaunâtre au brun foncé	Agréable et aromatique

##### 3.1.3. Composition chimique d'HE par CG-MS

La composition chimique d'HE de thym récoltée à Hammam Melouane a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Les constituants de cette HE sont listés en fonction de leurs temps de rétention dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Composition chimique d'huile essentielle de *Thymus vulgaris L.* par CG-SM

Composés	%	Temps de Rétention (mn)	Formule chimique
1- $\alpha$ Thyjène	0.14	5.366	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
2- $\beta$ -Pinène	0.2	5.69	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
3-Camphène	0.5	5.907	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
4- $\beta$ -Myrcene	0.47	6.561	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
5- $\alpha$ -Terpinene	0.28	8.121	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
6- $\beta$ -Ocimène	0.27	9.61	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
7- $\alpha$ -Cymene	4.08	10.975	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
8- $\alpha$ -cis Ocimène	0.11	11.841	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
9- $\beta$ -cis Ocimene	0.2	12.983	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
10-Gamma Terpinène	0.02	13.671	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
11-Camphore	1.23	20.228	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
12-Linalool	39.07	20.999	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
13- $\beta$ Linalool	27.58	21.641	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
14- $\alpha$ Terpinéol	0.97	23.177	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
15-4-Terpineol	0.28	23.519	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
16-Bornéol	0.25	24.708	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
17-Geraniol	0.4	29.111	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
18-Borneol acetate	0.19	29.723	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
19-Thymol	5.86	30.194	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
20-Trans Caryophyllène	3.76	38.169	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
21-Linalyl anthranilate	5	34.95	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
Monoterpenes hydrocarbonés	7,5		
Monoterpenes oxygénés	74.6		
Sesquiterpenes hydrocarbonés	3.76		
Autres	12.02		
Total	97.88		

Au total, 21 composants ont été identifiés. Les principaux constituants sont le linalol (39,07 %), le  $\beta$ -linalool (27,58 %) et le thymol (5,86 %). L'HE analysée est riche en monoterpènes oxygénés 74.6. Les monoterpènes hydrocarbonés ne représentent que 7.5 %.

#### **3.1.4. Évaluation de la mortalité moyenne observée**

La mortalité moyenne observée pour les trois insectes traités, est illustrée par les trois graphiques., démontre un effet significatif pour les trois espèces de pucerons traitées par les différentes doses appliquées d'HE de *Thymus vulgaris* formulée au fil du temps. En effet, les comptages effectués à intervalles réguliers (1h, 3h, 6h, 12h, 24h, 48h) ont montré une réduction significative du nombre d'adultes dans la population traitée quelle que soit la dose testée, (D1, D2, D3, D4). Cette réduction observée a été attribuée à l'effet d'exposition du traitement. En revanche, le taux de mortalité moyenne observée dans le groupe témoin a été très faible.

### 3.1.5. Évaluation de la mortalité moyenne corrigée

La figure 15 représente le pourcentage de mortalité moyenne corrigée des trois espèces de pucerons selon la formule d'Abbott.

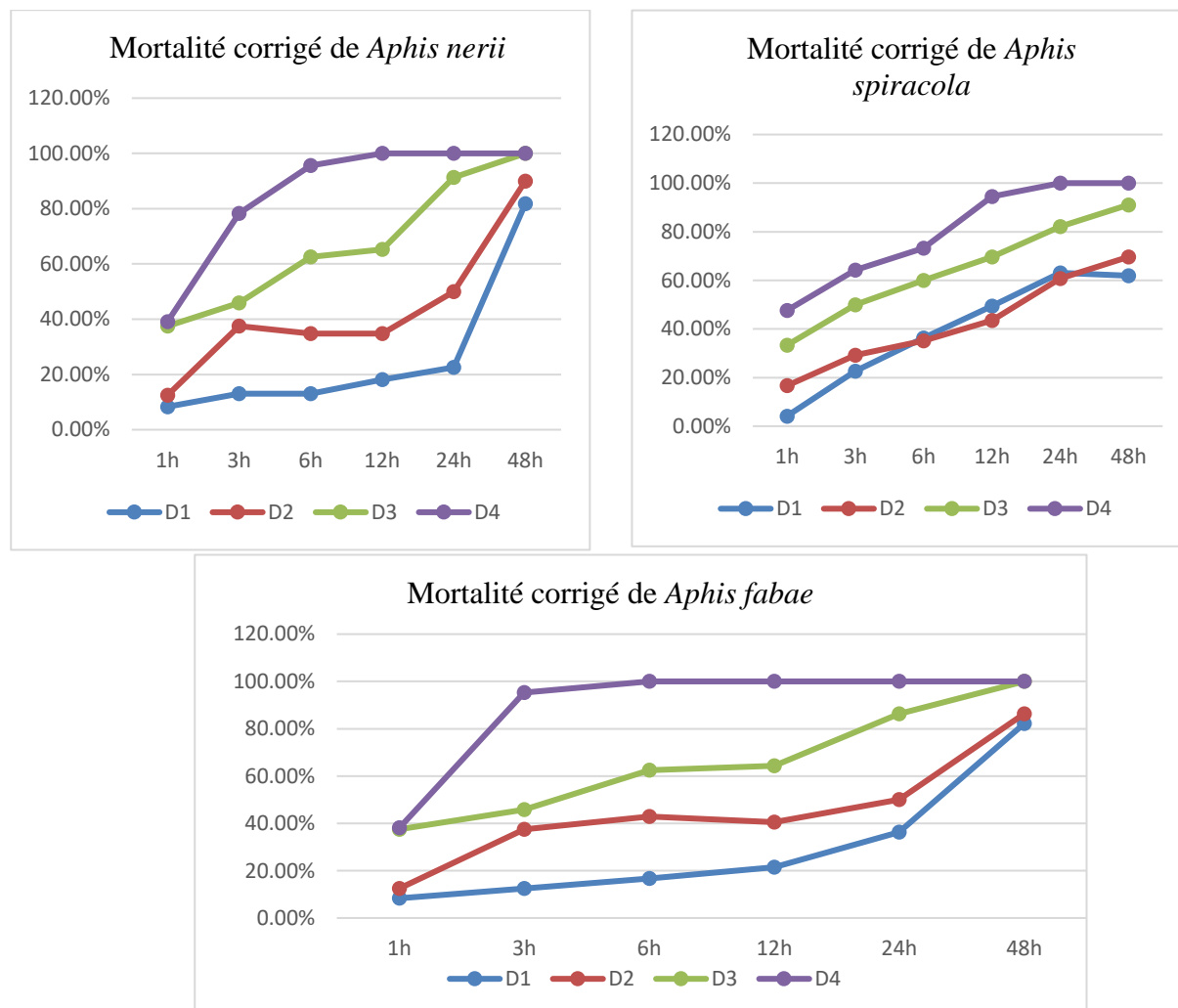


Figure 15 : Pourcentage de mortalité moyenne corrigée des pucerons *Aphis nerii*, *Aphis spiracola* et *Aphis fabae* sous l'effet d'HE formulée de *Thymus vulgaris*

L'évaluation de l'effet insecticide d'HE de *Thymus vulgaris* contre les adultes des espèces d'*Aphis* montre une efficacité remarquable. Effectivement, au bout de 48h d'exposition, le taux de mortalité moyenne corrigée pour les populations d'*Aphis nerii*, *Aphis spiracola* et *Aphis fabae* pour les différentes doses utilisées à savoir D1 (100 µl/ml) 81.81±0.06%, 61.89±0.16%, 82.14±0.06%, D2 (150 µl/ml) 90.47±0.08%, 69.64±0.06%, 86.31±0.01%, D3 (200 µl/ml) 100±0%, 91.07±0.07%, 100±0% et D4 (250 µl/ml) 100±0%, 100±0%, 100±0% respectivement.

### 3.1.6. Analyse de la variance de l'efficacité d'HE formulée de *Thymus vulgaris* sur les trois insectes

Pour comparer l'effet biocide d'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* sur les adultes des trois espèces de pucerons, nous avons déterminé la variance par l'application du modèle G.L.M (General Linear Model). Pour mieux interpréter les résultats du taux de la mortalité corrigée des trois ravageurs sous l'effet d'HE de *Thymus vulgaris* formulée, nous avons procédé à l'analyse de la variance à trois facteurs : facteur dose appliqué avec 5 niveaux (Témoin, D1, D2, D3 et D4), facteur temps 6 niveaux (1h, 3h, 6h, 12h, 24h et 48h) et facteur ravageur 3 niveaux (*Aphis nerii*, *Aphis spiraecola* et *Aphis fabae*). L'ensemble des résultats sont regroupés dans (Tableau 7 et la Figure 16).

Tableau 7 : G.L.M. appliqué aux l'HE formulée *Thymus vulgaris* (4 doses) à base de l'ensemble d'espèce du puceron *Aphis nerii*, *Aphis spiraecola* et *Aphis fabae*

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Espèces	89.246	2	44.623	0.402	0.671 Ns
Doses	30231.015	3	10077.005	90.748	0.000***
Temps	28925.789	5	5785.160	52.098	0.000***

N.S. : non significative, \* : Probabilité significative à 5 % ; \*\* : Probabilité significative à 1 % ; \*\*\* : Probabilité significative à 0,1 %

Le Tableau 7 et la Figure 16, montrent que, le facteur espèce a un effet non significatif sur la variabilité des taux de mortalité corrigés des trois *Aphis* (F-ratio=0,402 ; p=0.671 ; p> 0,05). En revanche, les facteurs doses appliqués et temps d'exposition des traitements révèlent l'existence d'une différence hautement significative des taux de mortalité corrigés des trois populations résiduelles avec les valeurs respectives (F-ratio=90,748 ; p=0,000 ; p< 0,01) et (F-ratio=52,098 ; p=0,000 ; p< 0,001).

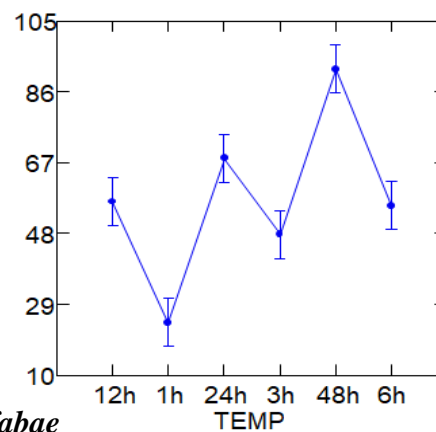
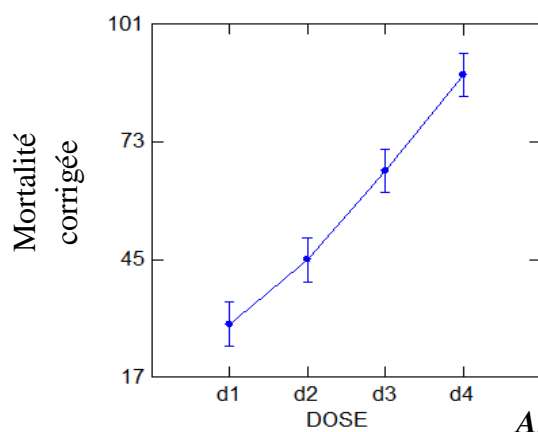
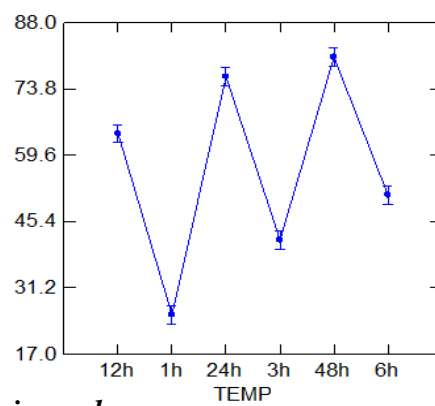
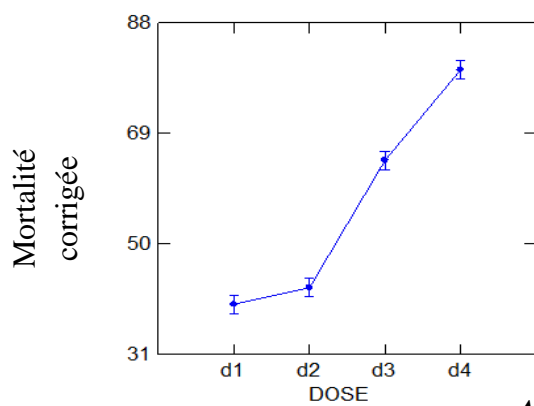
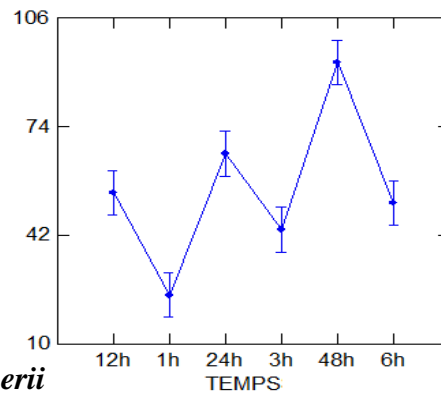
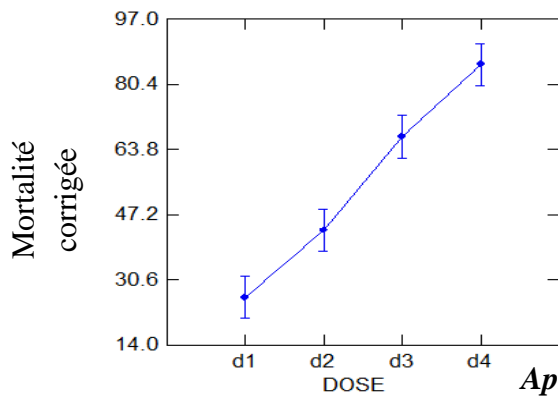
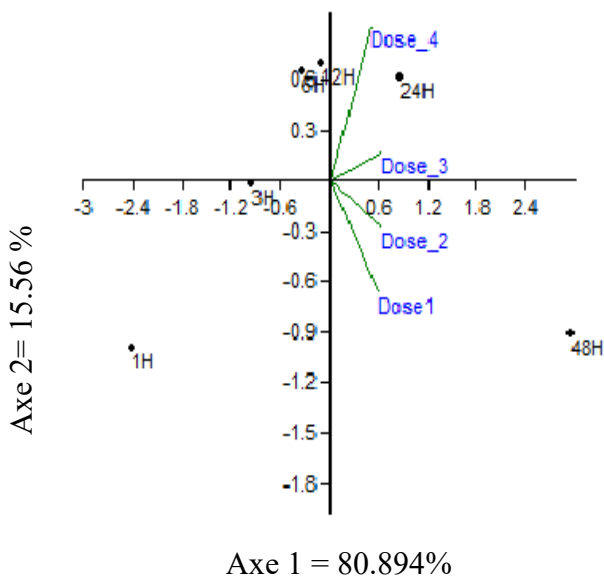


Figure 16 : Influence des facteurs doses et temps sur la variation des taux de mortalités corrigés des espèces *Aphis* sous l'effet de l'HE de *Thymus vulgaris*

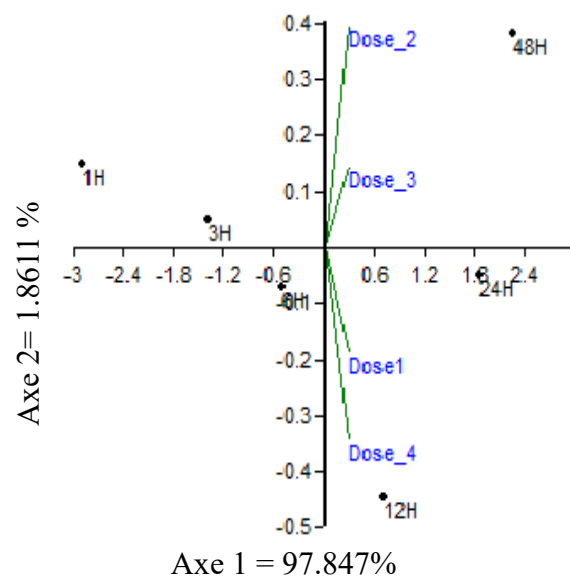
Les résultats de la Figure 18, démontrent que l'HE de *Thymus vulgaris*, a un effet croissant sur la mortalité corrigée des trois espèces d'*Aphis*, tout au long de la période d'observation 48 heures. Cette constatation suggère que, l'efficacité d'HE persiste sur une durée prolongée. De plus, parmi les différentes doses testées, la quatrième dose (D4) se révèle être la plus efficace en termes de mortalité corrigé des trois *Aphis*.

### **3.1.7. Analyse en composant principale (ACP)**

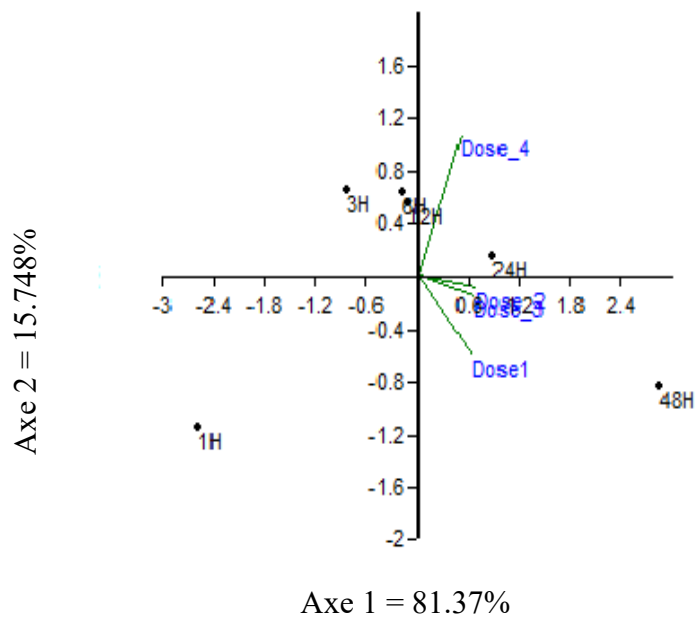
Dans notre étude, nous avons utilisé l'analyse en Composantes Principales (ACP) avec la méthode de corrélation pour explorer les relations entre différentes variables étudiées, telles que le taux de mortalité corrigé des espèces d'*Aphis* traitées par l'HE de *Thymus vulgaris* formulée à différentes doses (D1, D2, D3 et D4) et tout au long de la période du traitement (1h, 3h, 6h, 12h, 24h et 48h). En d'autres termes, l'objectif de cette analyse est de déterminer la corrélation entre les doses utilisées et la durée de traitement d'HE de *Thymus vulgaris* vis-à-vis des espèces d'*Aphis nerii*, *Aphis spiraecola* et *Aphis fabae*. Ces résultats vont nous aider à mieux comprendre l'efficacité de l'HE formulée, dans la lutte contre ces trois ravageurs spécifiques et redoutables des plantes cultivées et ornementales (Figure 17)



*Aphis nerii*



*Aphis spiraecola*



*Aphis fabae*

Figure 17 : Projection de mortalité corrigée des différentes doses et le temps d'exposition d'HE de *Thymus vulgaris* formulée contre *Aphis nerii*, *Aphis spiraecola* et *Aphis fabae*



L'analyse des composantes principales en corrélation d'*Aphis nerii* sur deux axes, axe 1 : 80.894% et axe 2 : 15.56%, nous a permis de déduire le temps idéal pour l'essai biocide effectué, en classant nos paramètres en un groupe remarquable : Le groupe de la 4ème dose situé dans le côté positif a regroupé les paramètres ayant donné les meilleurs résultats, où l'on note que 3 différentes heures (6h, 12h et 24h) étaient proches de l'axe 1. La mortalité était plus élevée en fonction de la dose et du temps lors de l'essai biocide effectué.

En analysant les composantes principales en corrélation d'*Aphis spiraecola* sur les deux axes : axe 1 : 97,84% et axe 2 : 1,86%, nous pouvons déduire des informations sur la durée et le moment idéal des essais biocides. En classant nos paramètres, nous avons observé que l'HE de thym moins efficace contre *Aphis spiraecola* par rapport aux autres espèces d'*Aphis* traitées situé dans le côté positif

De plus, la mortalité des *Aphis* est similaire pour les trois doses D1, D2 et D3 appliquées pendant 48 heures.

L'analyse des composantes principales d'*Aphis fabae* sur les deux axes : axe 1 : 81.37% et axe 2 : 15.748 %, nous a permis de déduire la durée et le temps idéal pour l'essai biocide effectué, en classant nos paramètres. En outre nous observons que, la dose 2 et la dose 3 est très proches de l'axe 2, situé dans le côté positif qui, correspond à environ 24 heures, car les taux de mortalité sont presque identiques. En revanche, la dose 1 présente le taux de mortalité le plus faible, tandis que la dose 4 affiche le taux le plus élevé.

Bien entendu, une observation récurrente pour les trois résultats de l'analyse ACP, est que la première heure et les 48 heures se distinguent nettement des deux axes. Cette distinction s'explique par le fait que, la première heure présente le taux de mortalité le plus bas, tandis que les 48 heures présentent le taux le plus élevé.

### **3.1.8. Calcule des doses létales DL50 DL90**

Afin de déterminer les valeurs de la DL50 et de la DL90, nous avons effectué une transformation des pourcentages de mortalité corrigés enregistrés aux périodes de 24 et 48 heures, ainsi que des doses d'*Thymus vulgaris*, en utilisant les Probits et les logarithmes décimaux pour calculer l'équation mentionné dans les figures. Par la suite, nous avons tracé une

droite de régression associée à ces données, accompagnée de son coefficient de détermination.  
(Figure 20,21,22)

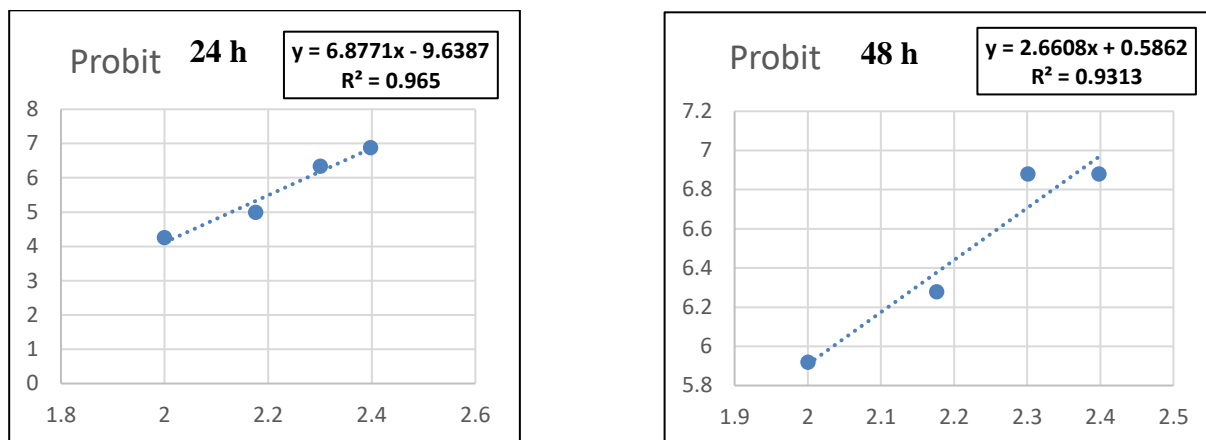


Figure 18 : Droites de régression exprimant le taux de mortalité DL 50% et DL 90% des *Aphis nerii* dans 24 et 48 heures.

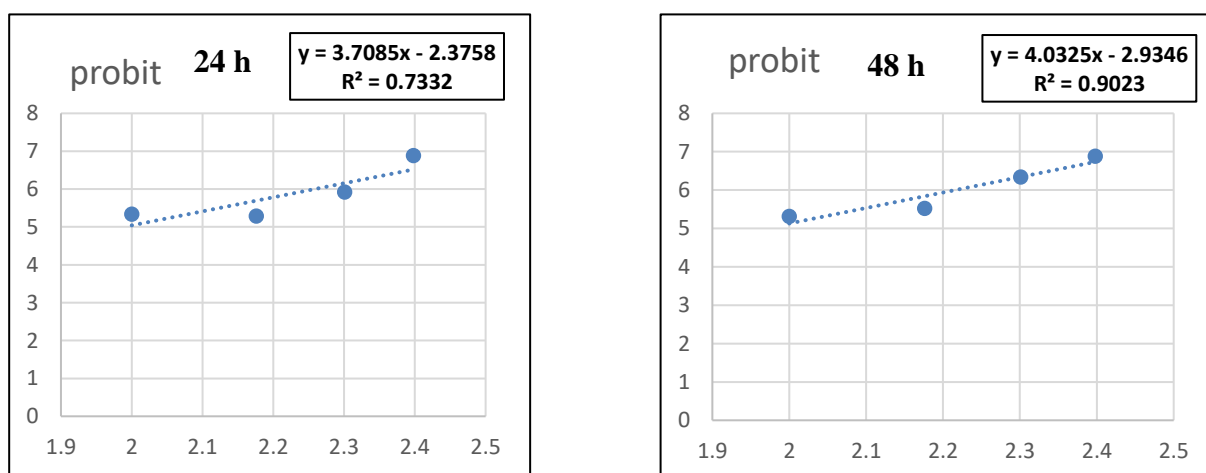


Figure 19 : Droites de régression exprimant le taux de mortalité DL 50% et DL 90% des *Aphis spiraecola* dans 24 et 48 heures.

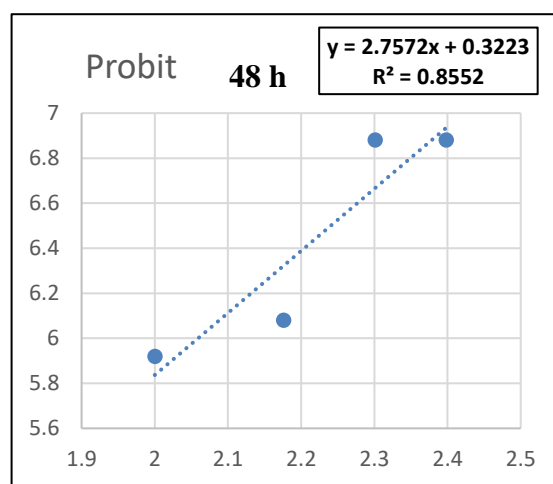
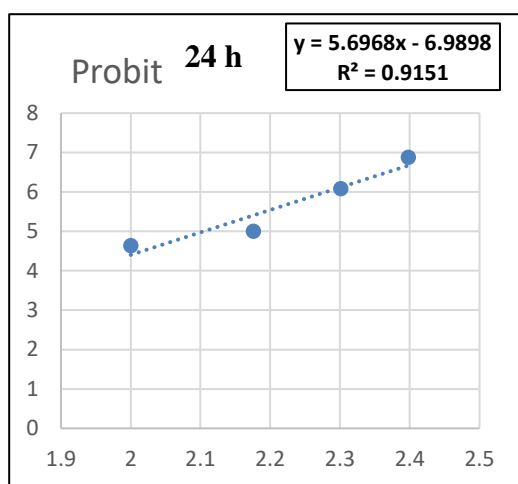


Figure 20: Droites de régression exprimant le taux de mortalité DL 50% et DL90% des *Aphis fabae* dans 24 et 48 heures.

La toxicité de l'HE de *Thymus vulgaris* formulée utilisée et sa létalité contre les trois espèces de pucerons est mise en évidence grâce aux résultats obtenus après avoir calculé la DL50 et DL90 de 24h et 48h mentionné dans le tableau. (Tableau 8)

Tableau 8 : Doses létales qui tuent DL50 et DL90 des trois espèces de pucerons traitées

DL µl/ml Heures	<i>Aphis nerii</i>		<i>Aphis spiraecola</i>		<i>Aphis fabae</i>	
	DL 50	DL 90	DL 50	DL 90	DL 50	DL 90
24 h	134.4	206.41	97.60	216.09	127.24	213.47
48 h	46.3	138.0	92.92	192.78	49.72	144.80

Nous remarquons que, la DL50 pour *Aphis nerii*, la plus élevée qui a provoqué la mort chez 50 % des individus, est de 134,4 µl/ml après 24 heures et la DL 90 la plus élevée qui, a provoqué la mort de 90% des individus est notée chez *Aphis spiraecola* 216.09 µl/ml. La DL50

et la DL90 la plus élevée après 48 h ont été notées chez la même espèce *Aphis spiraeicola* 92.92 µl/ml et 192.78µl/ml respectivement.

Les valeurs obtenues indiquent que, l'activité insecticide d'HE *Thymus vulgaris* formulée varie en fonction de la dose utilisée et elle est également influencée par le temps d'exposition.

### 3.2. Discussion

A travers cette étude, nous avons tenté de mettre en évidence, l'efficacité d'HE de *Thymus vulgaris* comme biocide contre *Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola* et *Aphis fabae*.

L'HE utilisée a été extraite à partir de la partie aérienne de la plante de *Thymus vulgaris*, comprenant les tiges, les feuilles et les fleurs. La méthode d'hydro-distillation a été utilisée pour cette extraction. Cependant, nous avons obtenu un rendement de 0,38%. Ce dernier est considéré comme relativement faible, en comparaison avec celui obtenu par Hassani et *al.*, (2017), qui ont travaillé sur la même espèce : *Thymus vulgaris* à l'état sec dans la région de Tiaret 1,18%. Il est important de noter que, la variation de ce paramètre est également influencée par le lieu de récolte, la période et le stade physiologique de la plante (Macheix et Fleuriet, 2005).

L'analyse chimique effectuée par CG-/SM a révélé que, l'HE utilisée dans cette étude est caractérisée par la présence de deux composés majoritaires qui sont : linalol (39,07 %) et  $\beta$ -linalool (27,58 %). L'HE analysée est riche en monoterpènes oxygénés 79,20%. Les monoterpènes hydrocarbonés ne représentent que 11,66 %.

Selon Chaib, (2020), les résultats de l'analyse de la composition chimique de *Thymus vulgaris* réalisée par GC/MS, révèlent que le thymol est le composant dominant, représentant 56,38% de la teneur en monoterpènes oxygénés. Parmi les hydrocarbures monoterpéniques, l' $\alpha$ -cymène est principalement présent avec 13,18%. Les hydrocarbures sesquiterpéniques sont représentés par le  $\beta$ -sesquiphellandrène (1,22%) et le caryophyllène (1,13%). Les autres groupes de composés sont présents à moins de 1%.

Sur la base des constituants chimiques des HEs, les plantes aromatiques et médicinales, sont considérées comme des biopesticides, qui peuvent être appliquées dans la lutte contre divers insectes et ravageurs (Ketho et *al.*, 2004). Les travaux menés par plusieurs chercheurs ont montré que, le recours à l'utilisation des HEs dans la lutte biologique contre les ravageurs, limite leur potentiel de reproduction en raison de leur propriété insecticide et inhibe leur cycle

de reproduction (Weaver et *al.*, 1991 ; Konstantopoulou et *al.*, 1992 ; Regnault-Roger et *al.*, 1993 ; Regnault-Roger et Hamraoui, 1994).

Le principal facteur qui, influence l'activité insecticide des HEs est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents. Cela peut être expliquer par la présence des composés volatils, qui réagissent en synergie entre eux (Dormaun et *al.*, 2000).

Selon Lahlou, (2004), les HEs ont prouvé leur pouvoir insecticide, antiparasitaire et antimicrobien. Les travaux sur l'effet toxique des HEs du thym appliqués par la technique de contact direct sur *Rhyzoperta dominica* ont conduit á une mortalité de 100% (Elguedoui, 2003). Certaines HEs, de plantes comme ceux de *Thymus vulgaris* et *Rosmarinus*, ont également des activités antifeedantes (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994). De fait l'utilisation de l'HE de *Thymus vulgaris* peut représenter une alternative à l'antibiothérapie pour lutter contre ces ravageurs.

Les analyses statistiques réalisées, ont clairement démontré l'efficacité significative de l'HE de *Thymus vulgaris* formulée utilisée en tant que biocide. De plus, il a été observé que, cet effet biocide est proportionnel à l'augmentation de la concentration d'HE.

Les doses de 200 µl/ml et 250 µl/ml d'HE de *Thymus vulgaris* se sont avérées plus efficaces, avec un taux de mortalité corrigée estimée entre 91,07% et 100% pour les trois espèces de pucerons traités après une période de 48 heures. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Arab et Feddi, (2017). En effet ces derniers, dans leur étude ont appliqué un traitement à base d'extrait de thym. Le taux de mortalité des populations d'*Aphis fabae* a augmenté proportionnellement en fonction de la dose.

D'autre part, Camara, (2018) a enregistré un taux de mortalité de 100% pour les larves L3 pour toutes les concentrations après 6 heures d'exposition pour la même plante. Pour les larves L4, le taux de mortalité a dépassé les 50% pour toutes les concentrations et les différents temps d'exposition. De plus, un taux de 100% de mortalité a été enregistré après 6 heures d'exposition pour toutes les doses.

En somme, l'utilisation de formulations volatiles à base de plantes aromatiques et médicinales présente de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuellement disponibles. Les HEs, étant d'origine naturelle, sont généralement faiblement toxiques pour l'environnement. De plus, elles peuvent avoir une activité biocide élevée, ce qui en fait une

alternative prometteuse aux produits chimiques de synthèse. Les HEs offrent ainsi la possibilité de contrôler les ravageurs tout en minimisant les impacts négatifs sur l'écosystème.

---

## **Conclusion et perspectives**

---

## Conclusion

Le présent travail a pour objectifs, l'identification et la caractérisation de la partie aérienne de l'HE de *Thymus vulgaris* récolté dans le secteur de Hammam Melouane, qui est une partie intégrante du Parc National de Chréa (PNC) et l'évaluation de son activité biocide sur trois espèces *Aphis* redoutables pour la majorité des plantes cultivées et ornementales. Il s'agit d'*Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola* et *Aphis fabae*.

L'HE a fourni un rendement d'extraction de 0,38%. L'analyse chimique de l'HE par CG-SM a révélé la présence de deux composés majoritaires qui sont : linalol (39,07 %) et  $\beta$ -linalool (27,58 %).

L'évaluation de l'effet insecticide d'HE de *Thymus vulgaris* contre les trois ravageurs adultes, montre une efficacité remarquable. Au bout de 48h d'exposition, le taux de mortalité moyenne corrigée pour les populations d'*Aphis nerii*, *Aphis spiraeicola* et *Aphis fabae* a varié entre  $81,81 \pm 0,06$  % et  $100 \pm 0\%$ ,  $61,89 \pm 0,16\%$  et  $100 \pm 0\%$ ,  $82,14 \pm 0,06\%$  et  $100 \pm 0\%$  respectivement.

La DL50 la plus élevée qui, a provoqué la mort de 50% d'individus a été enregistrée chez *Aphis nérii*,  $134,4 \mu\text{l/ml}$  après 24 heures et la DL 90 la plus élevée qui, a provoqué la mort de 90% des individus est notée chez *Aphis spiraeicola*  $216,09 \mu\text{l/ml}$ . Alors que, la DL50 et la DL90 la plus élevée après 48 h ont été notées chez la même espèce *Aphis spiraeicola*  $92,92 \mu\text{l/ml}$  et  $192,78 \mu\text{l/ml}$  respectivement.

Dans ce modeste travail, nous avons essayé de résoudre le problème de lutte chimique contre les insectes ravageurs de manière efficace. En plus cette contribution vise à réduire le nombre d'individus nuisibles tout en proposant une approche non toxique, naturelle et économique. Dans cette optique, il est important de s'orienter vers des solutions alternatives basées sur l'exploitation des ressources naturelles qui possèdent des propriétés insecticides.

En perspective, il serait intéressant d'élargir l'éventail de ces tests biocides d'HE de la même plante sur d'autres ravageurs de cultures, ainsi de réaliser des essais avec les HEs d'autres plantes en vue d'évaluer leurs potentialités biocide. L'ensemble des résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une conquête préliminaire. Il serait temps d'affranchir la barrière *in vitro* et de passer à l'étude *in vivo* pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités biocides des plantes aromatiques et médicinales.



---

## **Références bibliographiques**

---

## A

- Abbott, W.S. (1987).** *A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(2), 302-303.
- Abbott, W.S. (1925).** *A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Ecological Entomology*, 18, 265-267.
- Adwan, G., Abu-Shanab, B., Adwan, K., Abu-Shanab, F. (2006).** *Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on Pseudomonas aeruginosa. Turkish Journal of Biology*, 30, 239-242.
- AFNOR (Association Française de Normalisation). (2000).** *Recueil des Normes Françaises : Huiles Essentielles.* Edition AFNOR.
- Ali-delille, L. (2010).** *Les plantes médicinales d'Algérie.* 2ème édition. BERTI, Alger. 226p.
- Anton, R., & Lobstein, A. (2005).** *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Tec & Doc, Paris. 522p.
- Arab, H., & Feddi, I. (2017).** *Etude de l'effet biocide de quatre extraits végétaux : l'origan (Origanum vulgare), le thym (Thymus numidicus), le romarin (Rosmarinus officinalis) et la lavande (Lavandula stoechas) à l'égard du puceron noir de la fève Aphis fabae Scopoli, 1763 (Homoptera: Aphididae).* Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. p. 39.
- Assouad, M.W. (1972).** *Recherche sur la génétique écologique de Thymus vulgaris L. Étude expérimentale du polymorphisme sexuel.* These de Doctorat . 224p.

## B

- Balladin, D.A., Headley, O. (1999).** *Evaluation of solar dried thyme (Thymus vulgaris Linné) herlos.* Renewable Energy, 17, 523-531.
- Benabdelkader, T. (2012).** *Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, Lavandula stoechas sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique.* Thèse de Doctorat, Ecole Normale Supérieure, Kouba-Alger, Algérie. 240p.
- Boutayeb, A. (2013).** *Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales.* Rapport de recherche. Université Ibn Tofail. 65p.
- Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, monoterpènes et sesquiterpènes.* 3ème édition, Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 497p.
- Bruneton, J. (1993).** *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales.* 2ème édition. Technique documentation, Paris. 406p.

**Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 1120p.

**Burt, S.** (2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review*. International Journal of Food and Microbiology, 94, 223-253.

**Benayad, N.** (2013). *Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales : Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse*. Thèse de Doctorat : Chimie organique. Rabat : Mohammed Agdal. 179p.

## C

**Camara, F.** (2018). *Effet insecticide des huiles essentielles de Thymus vulgaris et Ocimum basilicum sur les larves des derniers stades de la mineuse de la tomate Tuta absoluta*. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 40p.

**Chaib, S.** (2020). *Encapsulation d'une huile essentielle extraite de Thymus vulgaris : Effet sur ses propriétés physico-chimiques et biologiques*. Thèse de doctorat, Université Larbi Ben M'hidi Oum el Bouaghi. 63p.

**Chouiteh, O.** (2012). *Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra*. Thèse. Oran: Université d'Oran.

**Crosbly, D.G.** (1966). *Natural pest Control Agents*. Advances in Chemistry series. Washington: In could. 156p.

## D

**Desmares, C., Laurent, A., & Delerme, A.** (2008). *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles*. AFSSAPS. 17p.

**Díaz-Maroto, M.C., Díaz-Maroto Hidalgo, I.J., Sánchez-Palomo, E., & Pérez-Coello, M.S.** (2005). *Volatile components and key odorants of fennel (Foeniculum vulgare Mill.) and thyme (Thymus vulgaris L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(13), 5385-5389.

**Dorosso, S.J.** (2002). *Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanaise du Burkina Faso : valorisation*. Université Ouagadougou. 190p.

## E

**Echchaoui, M.** (2018). *Le Pouvoir antibactérien des huiles essentielles*. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Rabat, Maroc. 220p.

**El Guedoui, L.R.** (2003). *Extraction des huiles essentielles de romarin et de thym. Comportement insecticide de ces deux huiles sur Rhyzopertha dominica*. Mémoire d'Ingénieur en Génie Chimique, Ecole Nationale Polytechnique d'El Harrach. 70p.

**El Haib, A.** (2011). *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*. Thèse de doctorat, Toulouse. 200p.

## F

**Fraval, A.** (2006). *Les pucerons*. *Insectes* 3, n°141.

## G

**Goetz, P., & Ghédira, K.** (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Science & Business Media, 394p.

## H

**Hajji, S., Beliveau, J., & Simon, D.** (1985). *Actes-Colloq. Int Plant. Aromat. Med. Maroc*, pp. 229-230.

**Hassani, A., Sehari, N., Sehari, M., Bouchenafa, N., Labdelli, F., & Kouadria, M.** (2017). *Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de Thymus vulgaris L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées*. Université Ibn Khaldoun, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, BP 78 Zaaroura - Tiaret. (13):7.

**Hemwimon, S., Pavasant, P., & Shotiprux, A.** (2007). *Microwave assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, 44-50.

## J

**Iserin, P.** (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2ème édition. Larousse. Londres. Pp : 143 et 225-226.

**Jiménez-Arellanes, A., Martinez, R., Garcia, R., León-Díaz, R., Aluna-Herrera, J., Molina-Salinas, G., & Said-Fernández, S.** (2006). *Thymus vulgaris as a potential source of antituberculosis compounds*. *Pharmacologyonline*, 3, 569-574.

**Johnson, T.** (1998). *CRC ethno botany desk reference*. CRC Press, pp. 1224.

## K

**Kalemba, D., & Kunicka, A.** (2003). *Antibacterial and antifungal properties of essential oils*. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.

**Kaloustian, J., & Hadji-Minaglo, F.** (2012). *La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie*. Paris. Edition Springer. 210p.

**Ketho, G.K., Glitho, I., & Koumaglo, A.** (2004). *Activité insecticide comparée des huiles essentielles de trois espèces de genre Cymbopogon (Poaceae)*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 18, 21-34.

**Kitajima, J., Ishikawa, T., Urabe, A., & Satoh, M.** (2004). *Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme*. *Phytochemistry*, 65, 3279-3287.

**Konstantopoulou, I., Vassipoulou, L., Mauragani Tsipidov, P., Scouras, Z.G.** (1992). *Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on Drosophila auraria*. *Experientia*, 48, 616-619.

**Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G.** (2008). *Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints*. *Biopesticide International*, 4(1), 63-84.

**Kulšić, T., Dragović-Uzelac, V., & Miloš, M.** (2006). *Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from oregano, thyme, and wild thyme*. *Food Technology and Biotechnology*, 44(4), 485-492.

**Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C.S., & Dubey, N.K.** (2008). *Assessment of Thymus vulgaris L. essential oil as a safe botanical preservative against post-harvest fungal infestation of food commodities*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 575-580.

## L

**Lafon, J.P.** (1988). *Thorand Prager, C., & Levy, G. "Biochimie structurale". Biologie des plantes cultivées*. Tom 1. Lavoisier. Tec. & Doc.

**Lahlou, M.** (2004). *Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils*. *Phytotherapy Research*, 18(6), 435-448.

**Laurent, A., & Delerme, A.** (2008). *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles*. AFSSAPS. pp. 9.

**Lucchesi, M.E.** (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. Thèse de doctorat, Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies. Réunion Island, France. pp. 72.

## M

**Mabberley, D.J.** (1997). *The plant-book: A portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge University Press. pp. 858.

**Macheix, J.J., & Fleuriet, A.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Presses polytechniques et universitaires romandes. pp. 1-67-162.

**Miresmailli, S., Bradbury, R., & Isman, M.B.** (2006). *Comparative toxicity of Rosmarinus Officinalis L. Essential Oil and Blends of its Major Constituents Against Tetranychus Urticae Koch (Acari: Tetranychidae) on Two Different Host Plants*. Pest Management Science, 62(4), 366-371.

**Morales, R.** (1997). *Synopsis of the genus Thymus L. in the Mediterranean area*. Lagasalia, 19(1-2), 249-262.

**Morales, R.** (2002). *The history, botany, and taxonomy of the genus Thymus*. In: *Thyme: The genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.

## O

**Ortiz-Rivas, B., & Martínez-Torres, D.** (2010). *Combination of molecular data support the existence of three main lineages in the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) and the basal position of the subfamily Lachninae*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 55, 305-317.

**Ouis, N.** (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil*. Thèse de Doctorat, Université d'Oran 1, Algérie. 6p.

**Oussala, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M.** (2006). *Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a Pseudomonas putida strain isolated from meat*. Meat Science, 73, 236-244.

**Özcan, M., & Chalchat, J.C.** (2004). *Aroma profile of Thymus vulgaris L. growing wild in Turkey*. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 30(4), 68-73.

## P

**Peter, K.V.** (2004). *Handbook of Herbs and Spices*. Elsevier. 376p.

**Poletti, A.** (1988). *Fleurs et plantes médicinales*. 2ème édition. Delachaux & Niestlé S.A., Suisse. pp. 103 et 131.

## Q

**Quezel, P., & Santa, S.** (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS, Paris. 636p.

**Raghavan, S.** (2006). *Handbook of Spices, Seasonings, and Flavorings*. 2nd edition, CRC Press. 330p.

## R

**Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A.** (1994). *Antifeedant effect of Mediterranean plant essential oils upon Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera), bruchid of kidney beans, Phaseolus vulgaris L.* In: Highley, E., Wright, E.J., Banks, H.J., Champ, B.R. (Eds.), *Stored Product Protection*, Vol. 2. Wallingford, UK: CABI, pp. 837–840.

**Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A.** (1994). *Reproductive inhibition of Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera), bruchid of kidney bean (Phaseolus vulgaris L.) by some aromatic essential oils.* *Crop Protection*, 13(8), 624–628.

**Remaudière, G., & Remaudière, M.** (1997). *Catalogue des Aphidae du monde (Catalogue of the world's Aphididae), Homoptera, Aphidoidea.* Techn. Et prati., Ed. I.N.R.A.

## S

**Selmi, S., & Sadok, S.** (2008). *The effect of natural antioxidant (Thymus vulgaris Linnaeus) on flesh quality of tuna (Thunnus Linnaeus) during chilled storage.* *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(1), 36-45.

**Shahi, C., Leitch, M., & Lafortest, S.** (2009). *Marketing Intelligence System for Small-Scale Essential Oils Industry of North-Western Ontario. IUFRO 3.08 Small Scale Forestry Symposium Proceedings*, Morgantown, West Virginia, pp. 227-236.

**Skaria, B.P.** (2007). *Aromatic Plants*, Vol 1. New India Publishing. 290p.

**Stahl-Biskup, E., & Sàez, F.** (2002). *Thyme: The genus Thymus.* CRC Press. 346p.

## T

**Takeuchi, H., Lu, Z.G., & Fujita, T.** (2004). *New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (Thymus vulgaris L).* *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 1113-1134.

**Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A.** (2005). *Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 521p.

**Tiwari, M., Tandon, V.** (2004). *Medicinal plants.* Vol. 2, Gyan Publishing House, p. 653.

## U

**Ünlü, M., Daferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B., Sökmen, A.** (2002). *Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of Achillea setacea and Achillea teretifolia (Compositae).* *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 117-121.

W

**Weaver, D.K., Dubkel, F.V., Netzububanza, L., Jackson, L.L., Stock, D.T.** (1991). *The efficacy of linalool, a major component of freshly milled Ocimum canum Sim (Lamiaceae), for protection against post-harvest damage by certain stored Coleoptera.* Journal of Stored Products Research, 27, 213–270.

**Wichtl, M.** (2004). *Herbal Drugs and Pharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis.* 3rd edition, CRC Press. 704p.

**Wilson, R.** (2002). *Aromatherapy: Essential Oils for Vibrant Health and Beauty.* Penguin Edition. 340p.