

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Université SAAD DAHLAB de Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires
Département des Sciences Agronomiques

MÉMOIRE DE MAGISTER

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Biopesticides et gestion phytosanitaire

L'EFFET COMPARÉ DE DEUX BIOPESTICIDES FORMULÉS SUR *TUTA ABSOLUTA* ET SUR UNE GAMME DE CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGÈNES

Par

Karima BABA-AISSA

Devant le jury composé de :

Z. KRIMI	Professeur U.S.D.Blida.	Présidente
Z.E. DJAZOULI	MCA U.S.D.Blida.	Promoteur
F. BOUNACEUR	MCA U.I.K.Tiaret.	Examineur
L. BENFKIH	MCA U.S.D.Blida.	Examinatrice
A.GUENDOZ-BENRIMA	Professeur U.S.D.Blida.	Co-promotrice

Blida, novembre 2011

RÉSUMÉ

L'EFFET COMPARÉ DE DEUX BIOPESTICIDES FORMULÉS SUR *TUTA ABSOLUTA* ET SUR UNE GAMME DE CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGÈNES

L'étude a porté en premier lieu sur l'évaluation de l'efficacité de deux biopesticides ; une formulation à base de crucifères et une huile essentielle de thym sur la mineuse de la tomate (*Tuta absoluta* Meyrick, 1917), comparé à un insecticide de synthèse (Thiaméthoxam). En second lieu sur l'estimation du pouvoir antifongique *in vitro*, sur une gamme de champignons phytopathogènes (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* et *Rhizoctonia solani*).

La forte pression exercée par les matières actives des deux biopesticides étudiés sur les larves de *Tuta absoluta* a montré un effet toxique plus important de l'huile essentielle de thym comparé à celui des crucifères, qui lui reste plus faible que l'effet du produit phytosanitaire.

Les analyses liées au pouvoir antifongique des deux biopesticides ont révélé que la formulation de crucifères présente un effet fongicide sur une large gamme d'isolats de champignons contrairement à l'huile essentielle de thym.

Les résultats des deux études menées ont montré que la toxicité des différents traitements évolue avec l'augmentation de la concentration des doses appliquées d'une part, et une efficacité relativement progressive par rapport au temps (durée après traitement) qui se traduit par une meilleure efficacité d'autre part.

Mots clés : Effet biopesticide, Crucifères, Huile essentielle, Thym, *Tuta absoluta*, Champignons phytopathogènes, Inhibition.

ABSTRACT

COMPARATIVE EFFECT OF TWO BIOPESTICIDES FORMULATED ON TUTA ABSOLUTA AND ON A RANGE OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI

The study was focused first on the evaluation of the effectiveness of two formulated biopesticides (cruciferous and an essential oil of Thyme) on the tomato pinworm (*Tuta absoluta* Meyrick 1917) compared with a synthetic insecticide. (Thiamethoxam). On the other part, the *in vitro* antifungal effect on a range of phytopathogenic fungi (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Alternaria alternata*) was tested.

The strong pressure exerted by the active ingredients of both biopesticides on the larvae of *Tuta absoluta* showed a toxic effect of the most important essential oil of thyme compared to that of crucifers, which remains lower than the effect of plant products.

The analysis related to the two antifungal biopesticide showed that the formulation of the cruciferous presents an effect on a wide range of fungal isolates in contrast to the essential oil of thyme.

The results of both studies showed that the toxicity of the different treatments vary with increasing concentration of applied doses on the one hand, and a relatively gradual efficiency versus time (time after treatment) which results in improved efficiency on the other.

Keywords: Biopesticide effect, Crucifers, Essential oil, Thyme, *Tuta absoluta*, phytopathogenic fungi, Inhibition.

ملخص

مقارنة تأثير نوعين من المبيدات الحيوية على *Tuta absoluta* و على مجموعة من الفطريات الممرضة للنبات

ركزت الدراسة في جزء منها على تقييم فعالية نوعين من المبيدات الحيوية أي: صياغة مستندة من الصليبيات وزيت أساسي للزعر على *Tuta absoluta* Meyrick 1917 مقارنة مع مبيد حشري اصطناعي (Thiaméthoxam) و من ناحية أخرى تقدير مخبري لقوة المبيدات ضد مجموعة من الفطريات الممرضة للنباتات (*Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*).

أظهرت قوة ضغط العناصر النشطة للمبيدين الحيويين على يرقات *Tuta absoluta* تأثيرا كبيرا للزيت الأساسي للزعر مقارنة مع صياغة الصليبيات التي تبقى أقل سمية بالمقارنة مع تأثير المبيد الاصطناعي.

و قد كشفت النتائج المتعلقة للمبيدين الحيويين للقدرة ضد الفطريات أن صياغة الصليبيات لها تأثير على مجموعة واسعة من الفطريات المعزولة عكس الزيت الأساسي للزعر.

و أظهرت كل من الدراستين أن سمية العلاجات المختلفة تتزايد مع زيادة تركيز الجرعة التي تم تطبيقها من جهة و فعالية نسبية متزايدة مع مرور الوقت التي تنترجم بأفضل فعالية من جهة أخرى.

كلمات مفتاحيه : تأثير، المبيدات الحيوية، الصليبيات ، الزيت الأساسي، زعر، *Tuta absoluta*، الفطريات الممرضة للنبات، تثبيط.

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu de m'avoir donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Mes profonds respects, toute ma gratitude et ma reconnaissance vont à mon promoteur **D^r DJAZOULI Z.E.** pour son bon encadrement, son aide précieuse et sa disponibilité tout au long de ma formation. Merci aussi pour sa rigueur scientifique, ses précieux conseils et surtout sa patience et ses encouragements qui m'ont permis de mener à bien cette étude. En un mot ça a été un honneur pour moi de travailler avec lui.

J'adresse toute ma gratitude et mon profond respect au **P^r KRIMI Z.** qui me fait l'honneur de présider le jury. Je tiens à la remercier particulièrement pour m'avoir fait confiance en m'ouvrant les portes de son laboratoire et en ayant mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail. Je la remercie également pour m'avoir consacré de son temps afin de m'orienter et de travailler au mieux la partie champignons. J'avoue avoir trouvé en elle une attention et une gentillesse inestimables.

J'exprime mes vifs remerciements et ma grande considération à ma Copromotrice **P^r GUENDOZ-BENRIMA A.** pour ses conseils, son aide et sa disponibilité durant toute mon étude.

Mes respects et mes sincères remerciements vont au **D^r ALLAL-BENFKIH L.** d'avoir bien voulu accepter d'être membre de jury pour examiner ce travail et de l'enrichir.

Je remercie fortement **D^r BOUNACEUR F.** d'avoir bien voulu accepter d'être membre de jury et d'examiner ce travail.

Un grand merci au **P^r SNOUSSI S A.** pour toute l'aide qu'il a pu m'apporter.

Un grand merci également à notre professeur **M^r AROUN M.E.F.** qui a toujours été là pour nous.

Je tiens à remercier mon ami, le **D^r MERAH.O** pour ses encouragements, son envie de m'aider et surtout pour avoir répondu présent à chaque fois que j'ai eu besoin de ses conseils.

Mes remerciements vont sans doute à ma famille en particulier à mon cher époux **KAMEL** qui a cru en moi et n'a cessé de me donner du courage et de me soutenir pendant les moments difficiles, à mon adorable fille **MARYA** et à mon amie **SIHEM** qui m'a énormément aidé dans l'accomplissement de mon travail.

A tous mes enseignants et mes professeurs qui ont assuré ma formation sans oublier les personnels du département d'agronomie de Blida.

A **DJEMAI Y.** la technicienne du laboratoire de zoologie et à mon ami **BELATRECHE M.** pour leur gentillesse, leur aide et leur disponibilité.

Je tiens à remercier aussi toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Karima B.

DÉDICACES

C'est avec un immense plaisir et une grande émotion que je dédie aujourd'hui ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers mais qui ne font plus partie de ce monde ; mon père, mon petit frère Mohamed et mes beaux parents ainsi qu'à tous ceux que je porte dans mon cœur en particulier

*Ma très chère **mère**, que Dieu la garde*

*Mon adorable époux **KAMEL***

*La prunelle de mes yeux, ma fille **MARYA***

*Mes **frères** et **sœurs***

*Toute **ma famille** et **belle famille***

*Tous **mes enseignants**.*

*Tous **mes amis (es)** en particulier **SIHEM***

Karima

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS

DÉDICACES

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ILLUSTRATIONS ET GRAPHIQUES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

19

**CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉS SUR L'ÉTAT PHYTOSANITAIRE DE LA
TOMATE**

23

1.1. Généralités sur les champignons phytopathogènes

24

1.1.1. Importance économique des maladies fongiques

25

1.1.2. Cycle parasitaire des champignons phytopathogènes

26

1.1.3. Biologie et mode d'action des champignons phytopathogènes

26

1.1.3.1. Les enzymes des pathogènes

27

1.1.3.2. Les toxines

29

1.1.3.3. Les régulateurs de croissance

29

1.1.3.4. Les polysaccharides

29

1.1.3.5. Les supprimeurs de la défense des plantes

30

1.1.4.	Symptomatologie des principales maladies fongiques de la tomate	30
1.1.4.1	Chancre à <i>Alternaria</i> ou <i>alternariose</i>	30
1.1.4.2	<i>Rhizoctonia solani</i>	32
1.1.4.3	La fusariose vasculaire causée par <i>Fusarium oxysporum</i>	34
1.2.	Généralités sur les ravageurs animaux	36
1.2.1	Les thrips et les aleurodes	36
1.2.2	Les pucerons	37
1.2.3	Les mouches mineuses	39
1.2.4	Les mineuse de la tomate <i>Tuta absoluta</i>	40
1.2.4.1	Origine et distribution géographique	40
1.2.4.2	Description	43
1.2.4.3	Biologie	44
1.2.3.4	Symptômes et dégâts	47
1.2.3.5	Gamme d'hôtes	49
1.2.3.6	La sensibilité variétale	49
	CHAPITRE 2 : BIOPESTICIDES ET PERSPECTIVES DE LUTTE	50
2.1.	Les pesticides, utilisation et limites	52
2.1.1	Résistance	53
2.1.2	Impact sur la disponibilité faunistique	54
2.2.	La lutte biologique	57
2.3.	Les biopesticides	58

2.3.1.	Le marché des biopesticides	59
2.3.1.1.	Biopesticides microbiens	60
2.3.1.2.	Les biocides inertes	62
2.3.1.3.	Mode d'action des biocides inertes	63
2.3.1.3.1	Mode d'action des huiles essentielles	63
2.3.1.3.2.	Mode d'action des crucifères	69
2.3.1.3	Les perspectives d'avenir de la lutte sémiochimique	73
2.3.1.3.1.	Avantages des biopesticides	74
2.3.1.3. 2	Désavantages	75
CHAPITRE 3 : MATÉRIEL ET MÉTHODES		76
3.1.	Conditions expérimentales	77
3.1.1.	Préparation du matériel végétal	77
3.1.2.	Préparation du matériel animal	79
3.1.3.	Présentation des biopesticides	82
3.1.4.	Présentation de la chambre de culture	83
3.2.	Étude in vivo du pouvoir insecticide des biopesticides	84
3.2.1.	Évaluation du biopesticide à base de crucifère	84
3.2.2.	Évaluation du biopesticide à base de thym	87
3.2.3.	Évaluation d'un pesticide de synthèse	88
3.2.4.	Estimation de l'activité insecticide des biopesticides et du produit phytosanitaire	88
3.3.	Étude in vitro du pouvoir antifongique des biopesticides	89

3.3.1.	Présentation des souches fongiques	
3.3.2.	Maintien (entretien) et purification des souches fongiques	89
3.3.3.	Évaluation de l'effet antifongique du biopesticide à base de crucifères	90
3.3.4.	Évaluation de l'effet antifongique du biopesticide à base d'huile essentielle de thym	90
3.3.5.	Estimation de l'effet antifongique des biopesticides	91
3.4.	Analyse statistiques des résultats	92
	CHAPITRE 4 : RESULTATS ET INTERPRETATIONS	93
4.1.	Évaluation de l'activité insecticide des biopesticides	93
4.1.1.	Évaluation de l'activité insecticide du biopesticide à base de crucifères et du produit phytosanitaire	93
4.1.1.1.	Évolution temporelle de l'efficacité du biopesticide à base de crucifères et du produit phytosanitaire	93
4.1.1.2.	Étude comparée de l'efficacité du biopesticide à base de crucifères et du produit phytosanitaire	95
4.1.2.	Évolution temporelle de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire	98
4.1.2.1.	Évolution temporelle de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire	99
4.1.2.2.	Étude comparée de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire	100
4.1.3.	Étude comparée de l'efficacité des biopesticides à base de crucifères, d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire	104

4.2.	Évaluation de l'activité antifongique des biopesticides	107
4.2.1.	Évolution temporelle de l'activité antifongique des biopesticides	108
4.2.2.	Étude comparée de l'activité antifongique des biopesticides à base de crucifères, et d'huile essentielle de thym	116
4.2.3.	Évaluation temporelle de l'effet combiné des doses des biopesticides sur les différents isolats fongiques	118
4.2.3.1.	Effet combiné des biopesticides sur les isolats fongiques	118
4.2.3.2.	Effet combiné des doses d'applications sur les isolats fongiques	120
4.2.3.3.	Effet combiné des périodes d'applications sur les isolats fongiques	122
4.3.	Variabilité des l'efficacité antifongique sur les différents isolats phytopathogènes	123
	CHAPITRE 5 :DISCUSSION GÉNÉRALE	125
	CONCLUSION	139
	APPENDICES	143
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	146

LISTE DES ILLUSTRATIONS ET GRAPHIQUES

Figure 1.1.	Évolution des superficies et de la production de la tomate sous serres de 2000 à 2009	24
Figure 1.2.	Les chancres d' <i>Alternaria</i> causés par <i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>Lycopersici</i>	32
Figure 1.3.	Pourriture des fruits de la tomate causée par <i>Rhizoctonia solani</i>	34
Figure 1.4.	Brunissement de tissu vasculaire causé par <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Lycopersici</i>	36
Figure 1.5.	Pourritures des racines avec brunissement des tissus vasculaires Causée par <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>	36
Figure 1.6.	Aire de répartition de la mineuse dans le monde	41
Figure 1.7.	Carte de distribution dans la région méditerranéenne: marquer les emplacements rouges indique la présence de <i>Tuta absoluta</i>	42
Figure 1.8.	Adulte de <i>Tuta absoluta</i>	43
Figure 1.9.	Cycle de vie de <i>T. absoluta</i>	46
Figure 1.10.	Dégâts de de <i>T. absoluta</i> sur les feuilles de tomate	48
Figure 1.11.	Dégâts causés par les larves de <i>T. absoluta</i> sur les fruits	48
Figure 2.1.	Réduction des surfaces cultivables par habitant	
Figure 2.2.	Evolution du nombre d'espèces d'insectes résistants	54

Figure 2.3.	Marché mondial des biopesticides et pesticides synthétiques	59
Figure 2.4.	Le marché mondial des biopesticides microbiens en 2005	59
Figure 3.1.	Obtention du matériel végétal	78
Figure 3.2.	Plants de tomate au stade 3 feuilles	78
Figure 3.3.	Plants de tomate après repiquage	78
Figure 3.4.	Présentation de la chambre de culture	80
Figure 3.5.	Conduite de l'infestation des plants de tomate	81
Figure 3.6.	Présentation des biopesticides utilisés	82
Figure 3.7.	Présentation générale de l'hortibox	83
Figure 3.8.	Marquage des mines pleines sur feuillage	85
Figure 3.9.	Application du biopesticide à base de crucifères	86
Figure 4.1.	Evolution temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet du biopesticide à base de crucifère et du pesticide de synthèse	94
Figure 4.2.	Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base de crucifère et du Thiaméthoxam (a : produits, b : doses, c : périodes)	96
Figure 4.3.	Effet comparé des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base de crucifère et du Thiaméthoxam (a : après 24h, b : après 48h, c : après 72h)	98
Figure 4.4.	Evolution temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du pesticide de synthèse	99

Figure 4.5.	Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du Thiaméthoxam (a : produits, b : doses, c : périodes)	102
Figure 4.6.	Effet comparé des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du Thiaméthoxam (a : après 24h, b : après 48h, c : après 72h)	104
Figure 4.7.	Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet des différents biopesticides et du Thiaméthoxam (a : produits, b : doses, c : périodes)	106
Figure 4.8.	Evolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien de <i>Fusarium solani</i> sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b)	109
Figure 4.9.	Evolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien de <i>Rhizoctonia solani</i> sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b)	110
Figure 4.10.	Evolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien d' <i>Alternaria alternata</i> sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b)	112
Figure 4.11.	Evolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien de <i>Fusarium oxysporum</i> sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b)	113
Figure 4.12.	Pouvoir antifongique du biopesticide à base d'huile essentielle de thym représenté par l'inhibition de la croissance mycélienne	114

Figure 4.13.	Pouvoir antifongique du biopesticides à base de formulation de crucifères représenté par l'inhibition de la croissance mycélienne	115
Figure 4.14.	Etude comparé des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes sous l'effet des biopesticides (a : biopesticides, b : isolats fongiques, c : doses, d : périodes)	117
Figure 4.15	Etude comparé des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes sous l'effet des biopesticides	120
Figure 4.16	Etude comparé des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes sous l'effet des doses d'application	121
Figure 4.17.	Etude comparé des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes dans le temps	123
Figure 4.18.	Projection de l'effet fongicide des biopesticides sur les axes F1 et F2 des A.C.P	124

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1.	Caractéristiques des différents stades larvaires de <i>T. absoluta</i>	44
Tableau 2.1.	Coûts sociaux et environnementaux de l'utilisation des pesticides aux Etats-Unis	55
Tableau 2.2.	Stratégies d'application de la lutte biologique.	58
Tableau 2.3.	Variation des agents de biocontrôle des bioagresseurs	61
Tableau 2.4.	Effet du FACIN et autres produits sur quelques agents biologiques utilisés en serres	68
Tableau 4.1.	ANOVA One-way appliquée à l'évolution temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=150)	94
Tableau 4.2.	Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=150)	95
Tableau 4.3.	Test ANOVA appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=150)	97
Tableau 4.4.	ANOVA One-way appliquée à l'évolution temporelle des populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=150)	100
Tableau 4.5.	Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=144)	100
Tableau 4.6.:	Test ANOVA appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=144).	103
Tableau 4.7:	Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements biologiques et phytosanitaire sur les populations résiduelles de <i>Tuta absoluta</i> (N=258).	105

Tableau 4.8:	Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements sur la croissance mycélienne (N=40).	116
Tableau 4.9.:	ANOVA appliquée aux essais des effets des biopesticides sur les isolats fongiques (N=40).	119
Tableau 4.10:	ANOVA appliquée aux essais des effets des biopesticides sur les isolats fongiques (N=40).	120
Tableau 4.11:	ANOVA appliquée aux périodes d'applications sur les isolats fongiques (N=40).	122

INTRODUCTION

Les problèmes de protection des cultures qui se posent à l'humanité aujourd'hui sont aussi nombreux et divers qu'ils ont pu l'être tout au long de l'histoire de l'agriculture depuis plus de 10 000 ans [1].

Les plantes sont constamment exposées et menacées par les ravageurs et micro-organismes présents dans leur environnement. Les pertes dues, aux insectes, aux pathogènes et aux mauvaises herbes correspondent à 35% de la production agricole ; si l'on y ajoute les pertes après récolte, on estime à 45% les pertes dues à ces ravageurs et micro-organismes [2].

Au cours du 20e siècle, la lutte contre les ennemis des cultures a fait d'énormes progrès. Ces derniers ont été rendus possibles par des percées scientifiques et techniques notamment en chimie analytique et de synthèse et en biologie comportementale (dynamique des populations, analyse des écosystèmes, théorie et pratique de la lutte biologique, biotechnologie) [3].

L'effet des produits chimiques de synthèse sur l'agriculture a été si spectaculaire que l'agriculture conventionnelle signifie maintenant utiliser des produits chimiques. En conséquence à cet état de fait, la toxicité résiduelle élevée de ces produits pour un large éventail d'organismes, a donné lieu à de graves problèmes environnementaux [4].

Aussi, les phénomènes de résistance des agents phytopathogènes et des ravageurs aux pesticides ont conduit à utiliser des concentrations de plus en plus

fortes de substances actives. Cette augmentation s'est révélée source de désordres écologiques qui ont été qualifiées « d'effet 4R » pour résistance, rémanence, résurgence et rupture des chaînes trophiques [5].

Un des enjeux essentiels de l'agriculture du XXI^e siècle est donc de répondre à la demande croissante dans le respect de l'environnement. Toutefois, l'industrie réagit en développant de nouveaux produits satisfaisant aux normes de plus en plus sévères visant la protection de la santé et de l'environnement.

Ces critères écotoxicologiques plus exigeants amènent une augmentation importante des coûts de développement de nouveaux produits phytosanitaires [1].

Dans un contexte d'agriculture durable, la lutte biologique prise dans son sens large peut offrir de nombreuses méthodes de lutte alternatives aux insecticides de synthèse.

Parmi les méthodes de lutte biologique, les molécules bioactives qui sont utilisées comme biopesticides occupent une place de choix car elles se prêtent souvent à la production de masse requise pour l'industrie. Ces bioproduits sont généralement compatibles avec des méthodes de lutte biologiques classiques (ex. lâchers de prédateurs ou de parasites). Les biopesticides peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes ou encore d'extraits de plantes [6,7].

Le biopesticide d'origine microbienne qui a connu le plus grand succès commercial est le *Bacillus thuringiensis*, il occupe cette dernière décennie à lui seul environ 1,5 % du marché mondial des insecticides [8].

Plusieurs études se sont intéressées aux plantes pouvant être utilisées dans la protection des cultures. Ces plantes contiennent naturellement dans leurs tissus des quantités importantes de molécules bioactives qui ne sont pas intrinsèquement biocides. Cependant, lorsqu'elles sont exposées à un stress, ces plantes libèrent une gamme de produits connus pour leurs propriétés biocides et/ou biostatiques. Ces composés secondaires naturels sont souvent considérés

comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre les microorganismes pathogènes et ravageurs [9].

Il existe actuellement plusieurs familles de plantes entre autres les Brassicacées, sélectionnées spécialement pour leur production de biomasse et leurs propriétés de phytoprotection. Plusieurs espèces appartenant à la famille des crucifères ont été étudiées pour leurs activités allélochimiques. Cependant, elles contiennent des quantités importantes de composés appelés glucosinolates thioglucoside (GLSS) dans leurs différents tissus intervenant dans le processus de défense de ces plantes contre les bioagresseurs [10].

Les huiles essentielles sont également considérées comme des composés non phytotoxiques et potentiellement efficaces en industries agro-alimentaires et en agriculture contre les champignons phytopathogènes [11]. Ces dernières années, des intérêts ont été générés dans le développement antifongique non toxique tels que les huiles essentielles et les extraits à base de plantes pour contrôler les agents phytopathogènes qui attaquent les cultures en plein champ et en conservation [12,13].

De nos jours, *Tuta absoluta* est considérée comme l'un des ravageurs les plus importants de la tomate [6,9]. Elle constitue un facteur limitant du développement de la culture puisqu'elle peut causer entre 70 % et 100% de pertes [8,11].

Dans le cadre de la recherche sur les procédés de lutte biologique basés sur l'utilisation de nouvelles formulations d'extraits naturels de plantes contre certaines maladies de la tomate, nous nous sommes intéressés à l'étude *in vivo* de l'effet comparé de deux biopesticides l'un à base de crucifères et l'autre une huile essentielle à base de thym avec un produit insecticide sur *Tuta absoluta*, responsable de la maladie dite Mineuse de la tomate. Par ailleurs, nous avons étudié l'activité antifongique *in vitro* de ces bioproduits, sur une collection de champignons phytopathogènes à savoir ;*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*,

Rhizoctonia solani et *Alternaria alternata*, responsables de graves maladies fongiques chez la tomate.

La principale approche de cette étude, consiste en premier lieu à évaluer le pouvoir insecticide des deux biopesticides se traduisant par le taux des populations résiduelles en comparaison avec une molécule chimique (Thiaméthoxam) à trois temps différents soit 24,48 et 72 heures après application des différents traitements à différentes doses. En second lieu, nous avons jugé nécessaire d'évaluer leur pouvoir antifongique sur les différentes souches étudiées à deux pas de temps à savoir 5 et 10 jours et à différentes doses appliquées de façon à ressortir les souches les plus sensibles. Cette sensibilité *in vitro*, est traduite dans ce cas, par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de ces champignons.

CHAPITRE 1 :

GÉNÉRALITÉS SUR L'ÉTAT PHYTOSANITAIRE DE LA TOMATE

La tomate tient actuellement une place de choix dans l'alimentation humaine. Elle est cultivée aussi bien en plein air que sous abris serres et occupe parallèlement une place importante dans l'économie agricole mondiale.

La tomate est le produit le plus consommé dans le monde. Plus de 108 millions de tonnes de ce légume sont produits. La production est répartie dans toutes les zones climatiques, car elle est cultivée sous abris dans les régions les plus froides. Comme c'est une culture à cycle assez court qui donne un haut rendement, elle présente de bonnes perspectives économiques et la superficie cultivée s'agrandit de jours en jours [18].

Les statistiques données par la F.A.O. en 2007 [18], rapportent que les plus grands pays producteurs sont la chine (30.1 millions de tonnes), les Etats Unis d'Amérique (12.8 millions de tonnes), la Turquie (8millions de tonnes), l'Inde (7.6million de tonnes) et l'Italie (7.5millions de tonnes) [19].

En Algérie, la tomate a pu gagner une place importante dans l'économie du pays en enregistrant des accroissements notables en superficies et en production. C'est un légume de base pour la population algérienne et elle prend la deuxième place en maraîchage après la pomme de terre. Elle occupe une surface de l'ordre de 6000 ha dont l'essentiel est localisé au niveau des zones littorales et sublittorales [20] (Fig.1.1).

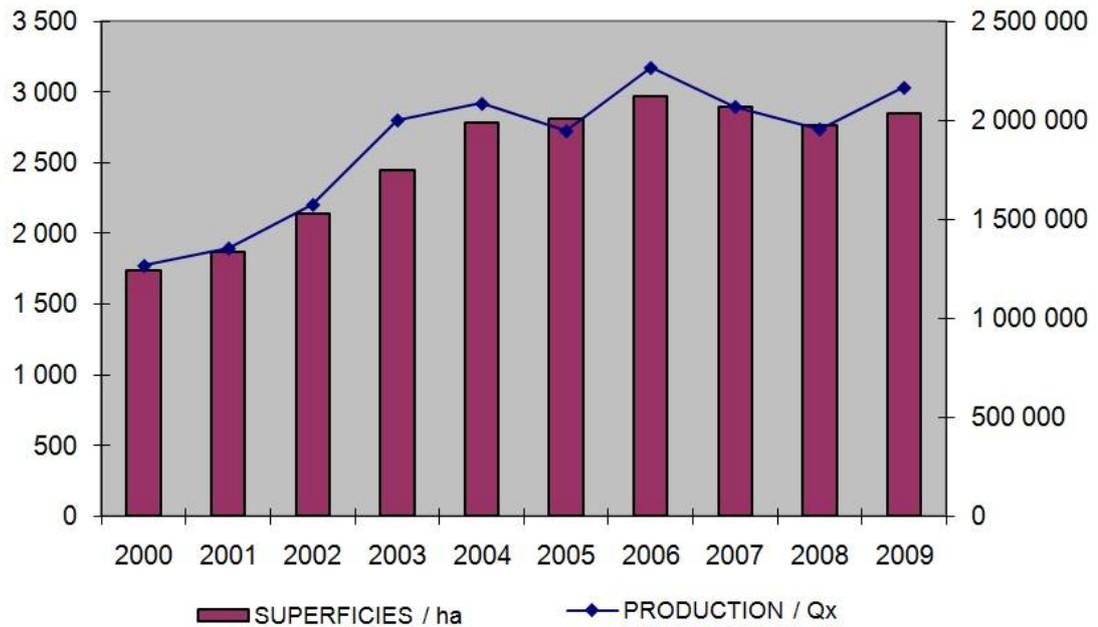


Figure 1.1 : Évolution des superficies et de la production de la tomate sous serres de 2000 à 2009 [20].

Malheureusement, le nombre de maladies connues sur cette *solanacée* est aussi démesuré. Elle est attaquée par de nombreux champignons à dissémination aérienne et/ou souterraine. Plusieurs centaines de bioagresseurs, plus d'une cinquantaine de maladies non parasitaires l'affectent, ceci sans compter les nouvelles pathologies qui émergent avec une fréquence inquiétante. Malgré les immenses progrès réalisés pour mieux les appréhender, les maladies et les ravageurs animaux de la tomate constituent encore une menace permanente pour les cultures et occasionnent des pertes parfois considérables [21].

1.1. Généralités sur les champignons phytopathogènes

Les Fungi ou mycètes constituent à présent un règne autonome, le cinquième règne ou règne fongique [du latin *Fungus* = champignon]. Le règne des *Fungi*, aussi appelé *Mycota*, constitue un taxon regroupant les organismes appelés plus communément champignons. Environ 90 000 espèces de champignons ont été décrites à ce jour, mais on estime qu'en 2007 moins de 10 % des espèces sont connues et identifiées [22].

Les champignons supérieurs pathogènes des plantes possèdent une paroi cellulaire chitineuse, ils sont à caractère hétérotrophe, ubiquistes possédant un noyau défini avec une membrane nucléaire et des chromosomes associés à des histones [23, 24, 25].

Ils sont formés d'un appareil végétatif appelé thalle, sans tissus fonctionnels ni organes différenciés, constitué de cellules végétatives allongées et cloisonnées nommées hyphes, rencontrés chez les formes les plus évoluées (Septomycètes qui regroupent les Ascomycètes et les Basidiomycètes) [26].

Ces hyphes s'associent le plus souvent en mycélium, sorte de feutrage difficile à voir à l'œil nu et le plus souvent impossible à identifier [25]. Parfois, le thalle est un simple tube sans cloisons ; on parle alors de structure cœnocytaire et de siphon, qui se rencontre chez les champignons inférieurs (Phycomycètes, Zygomycètes et Trichomycètes) [27].

1.1.1. Importance économique des maladies fongiques

Les plantes sont soumises à une multitude de facteurs endogènes et exogènes défavorables, qui induisent des perturbations homéostatiques et affectent leur physiologie, leur morphologie, leur croissance...etc. Les champignons phytopathogènes sont des parasites responsables des trois-quarts environ des maladies des plantes, et cela constitue également un important problème économique. Des études ont pu estimer largement que 10 % des récoltes sont perdues à cause des maladies. Parmi celles-ci, on peut citer les mildious, les oïdiums, les rouilles, les chancre et les piétins [28]. Les maladies fongiques non contrôlées peuvent entraîner des effets catastrophiques comme la grande famine de pomme de terre en Irlande (1845-1849) causée par *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, 1876, encore connue à ce jour dans le monde [29, 30].

1.1.2. Cycle parasitaire des champignons phytopathogènes

Le champignon pathogène peut se maintenir dans le sol, sur d'autres plantes, ou sur des débris végétaux, en attendant de se trouver en contact avec la plante-hôte. La contamination de celle-ci se fait le plus souvent par des spores, transportées par le vent, l'eau ou encore par les insectes. Le parasite peut aussi subsister à l'état de spores, dans certains organes (graine, tubercule, bourgeon) de la plante-hôte elle-même, en attendant les conditions favorables pour germer (en général, une température douce et une humidité importante) [22].

La plante réagit à la pénétration du champignon au niveau des tissus attaqués de diverses manières. La résistance à cette agression est une caractéristique génétique et un critère important dans la sélection des variétés de plantes cultivées, mais dépend aussi de plusieurs autres facteurs comme la lumière, l'âge de la plante, la nutrition et la présence de blessures. Le développement du mycélium, qui détourne à son profit les substances élaborées par les cellules végétales, va se traduire par un certain nombre de symptômes, propres à chaque maladie; jaunissement, flétrissement, nécroses générales ou localisées et altération de la croissance des organes de la plante [28]. La lutte contre les champignons phytopathogènes se fait par des pratiques culturales, mais surtout par des moyens chimiques ou biologiques [22].

1.1.3. Biologie et mode d'action des champignons phytopathogènes

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, ils tirent leur nourriture soit de la matière organique morte; pour les champignons saprophytes, soit de tissus végétaux vivants pour les organismes phytopathogènes (parasites) [31].

Ils se reproduisent essentiellement par des spores uni- ou pluricellulaires. Selon leur origine, on distingue les spores sexuées ou téléomorphes. Cette forme apparaît souvent en fin de saison et a pour fonction le maintien de l'espèce ainsi que les spores asexuées ou anamorphes. Cette dernière forme dite forme

imparfaite assure la propagation et la dissémination de la maladie et par conséquent l'infection et l'épidémie [32].

Pour coloniser l'hôte, les champignons phytopathogènes doivent posséder les armes nécessaires pour pénétrer à travers ou entre les cellules et affecter certains composants et voies métaboliques de la plante hôte. Cette pénétration est assurée d'une part par des hyphes spécialisés appelés appressoria (*sing appressorium*) dans le cas d'une pénétration mécanique; et d'autre part par voie biochimique en utilisant un arsenal enzymatique [33]. A titre d'exemple, le champignon du bois *Ceratocystis pilifera* (Fr.) C. Moreau, (1952) est capable de traverser les parois lignifiées des espèces de *Pinus* en exerçant une action mécanique ou physique, grâce à son hyphe perceur ou *transpressorium*, doté d'une tête renforcée et un stylet perceur [34].

Les équipements chimiques responsables de la virulence chez les champignons sont des substances principalement d'origine pathogène et comprennent :

1.1.3.1. Les enzymes des pathogènes

Elles peuvent désintégrer les composants structuraux des cellules hôtes, décomposer les substances alimentaires inertes dans la cellule ou d'affecter le protoplaste directement et interférer avec le fonctionnement de ses systèmes [33, 35]. Les champignons responsables de la production des enzymes de type hydrolases ou liases sont nombreux, ils assurent diverses activités au niveau de la cellule végétale:

- Activité protéolytique : les enzymes protéolytiques peuvent être produites constitutivement (*Botrytis cinerea*) Pers. ex Fr., 1832 ou par induction *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. En présence d'une activité protéolytique, la macération ou perte de cohésion est accélérée. Sur concombre, les infections de *Colletotrichum lagenarium* W.C. Snyder and H.N. Hans augmentent

considérablement la protéolyse après quatre à cinq jours, c'est-à-dire quand apparaissent les premiers symptômes de la maladie [33].

-
- Activité cellulosique et hémicellulosique : Nous pouvons citer la plupart des parasites des racines, *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*(Sacc.) W.C. Snyder and H.N. Hans , *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Scelerotium rolfsii* DC et *Verticillium albo-atrum*. Les pathogènes biotrophes ne produisent pas de cellulases. Plusieurs pathogènes produisent *in vitro* : les xylanases, les galactanases, les glucanases, les arabinases et les mannases. Toutefois, la xylanase semble jouer un rôle primordial chez les pathogènes des céréales d'autant plus que sa production est constitutive chez : *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton, *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & D.L. Olivier, (1952), *Helminthosporium maydis* (Drechsler) Drechsler, (1934), *Fusarium culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc. 1895 et *Rhizoctonia cerealis* (DC) [33].
- Activité ligninolytique : les champignons responsables des symptômes de type pourritures blanches du bois (*Xylaria sp*) sont parmi les rares organismes qui détruisent la lignine. Vu la structure de la lignine, la dégradation ne peut être le fait que d'un complexe enzymatique [35].
- Activité pectinolytique : La relation entre pathogénie et activité pectinolytique n'est toujours pas bien établie, la production d'enzymes pectinolytiques n'est pas en relation directe avec la virulence, sauf pour les isolats de *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, (1879), provenant de houblon chez qui, la forte production des polygalacturonase (PG) et la pectine méthylgalacturonase (PMG) est associée à une forte agressivité. Cette activité pectinolytique peut cependant être importante pour la pénétration dans l'hôte et la survie en tant que saprophytes [36].

1.1.3.2. Les toxines

Par définition, ce sont des substances secrétées par certains organismes pathogènes, dans le but d'attaquer les tissus de l'hôte. Ces composés semblent agir directement sur les protoplastes et interférer avec la perméabilité de ses membranes, en inhibant l'activité enzymatique et métabolique [31,26, 36]. *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* produit sur les plants de tomate divers symptômes, dont un flétrissement. Parmi les substances toxiques émises par le pathogène, l'acide fusarique. Cette toxine provoque la nécrose des feuilles et par conséquent une mort cellulaire. Son action primaire s'exerce sur la perméabilité des membranes [34].

1.1.3.3. Les régulateurs de croissance

Les phytohormones ou régulateurs de croissance exercent des effets hormonaux sur les cellules et augmentent ou diminuent leur capacité de se diviser et s'élargir. Les champignons causant le charbon du maïs (*Ustilago maydis DC*) (Persoon) Roussel, l'hernie des crucifères (*Plasmodiophora brassicae*), le mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans (Mont)*), le flétrissement du bananier (*Fusarium oxysporum fsp. cubense*), non seulement peuvent induire une augmentation du taux d'Acide Indole Acétique (AIA) dans l'hôte, mais sont eux-mêmes capables de produire l'AIA. Ils peuvent également diminuer la dégradation de l'AIA comme dans le cas des rouilles chez le blé [31, 34].

1.1.3.4. Les polysaccharides

Les champignons comme d'autres microorganismes sont connus pour la production de mucilage qui couvre leur cellules et constitue une interface entre les couches externes des pathogènes et l'environnement, ce sont les polysaccharides. Ces molécules libérées par le pathogène semblent jouer un rôle dans les maladies vasculaires, dans lesquels, ils occasionnent un blocage des tissus vasculaires, bloquant la montée de la sève brute qui constitue le début d'un flétrissement [37].

1.1.3.5. Les supprimeurs de la défense des plantes

Certains champignons phytopathogènes, comme *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Pers., (1794) (rouille du blé) et *Mycosphaerella pinoides* (Berk. & A. Bloxam) Vestegr., (1912) (tâches foliaires de pois), produisent des substances appelés supprimeurs qui agissent comme facteurs de pathogénicité, en supprimant l'expression des réactions de défense de la plante hôte. Pour les rouilles du blé, le supprimeur interagit avec les membranes cellulaires de la plante et réduit la liaison entre l'éliciteur glycoprotéique de défense à la membrane plasmique. De cette façon, la molécule du supprimeur réprime l'activité de la phénylalanine lyase ainsi que le développement normal des réactions de défense. Pour *Mycosphaerella pinodes* le supprimeur agit en réduisant l'activité de pompage des protons d'ATPases membranaires et ainsi diminuer temporairement les réactions de défense des cellules hôtes [38].

1.1.4. Symptomatologie des principales maladies fongiques de la tomate

1.1.4.1. Chancre à *Alternaria* ou alternariose

Cette maladie est causée par l'agent phytopathogène *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici* (Fr.) Keissl. (1912).

Ce champignon peut causer des dégâts bien visibles sur un grand nombre d'espèces végétales ayant un usage alimentaire, fourrager, industriel ou ornemental entraînent chaque année d'importantes pertes financières en production végétale. De plus, il peut causer des problèmes de santé humaine en provoquant des allergies. *Alternaria alternata*, appartient au Phylum des *Deuteromycota* et à la famille des *Dematiaceae* (champignons noirs). Ce parasite hiverne comme conidie ou mycélium sur des résidus végétaux et des semences pour se développer l'année suivante en saprophyte ou pathogène sur les plantes hôtes. *A. alternata* est aussi un parasite de faiblesse, s'attaquant pouvant s'attaquer à des plantes stressées ou blessées indépendamment de leur stade de développement [39].

L'inoculum constitué des conidies d'*A. alternata* se trouve pratiquement partout, en raison du grand nombre de ses plantes hôtes. Sa densité de population et en conséquence la pression d'infection augmente au cours de la période de végétation [39].

Le développement du champignon est le plus rapide sur des feuilles adultes ou vieillissantes, particulièrement en conditions humides ou sèches. *A. alternata* pénètre dans les plantes directement à travers la cuticule ou par des blessures [39].

Alternaria alternata provoque des dégâts sur les feuilles, les fruits, les inflorescences et les bulbes. Les taches foliaires se développent entre les nervures depuis le bord et la pointe des feuilles. Elles sont d'abord pâles avant d'évoluer en lésions brun clair irrégulières aux bords plus sombres et au centre plus clair, où les tissus se nécrosent puis disparaissent. Les taches sont peu à peu colonisées par un duvet noir de conidies [40].

Sur tomate, cette maladie est causée par l'agent phytopathogène *Alternaria alternata f. sp. lycopersici*. Les symptômes induits se manifestent sous forme de chancres sur les tiges, d'une coloration brun foncé, divisant et ceinturant la tige (Fig.1.2.a). Sur les feuilles, des chancres bruns ou noirs se développent avec des lésions nécrotiques sur de vastes régions du limbe et entre les nervures (Fig.1.2.b). Les fruits sont infectés avant leur maturité (stade vert), ils évoluent durant la période de maturation sous forme de chancres et de lésions grisâtres qui apparaissent sur les fruits (Fig.1.2.c) [39,40].

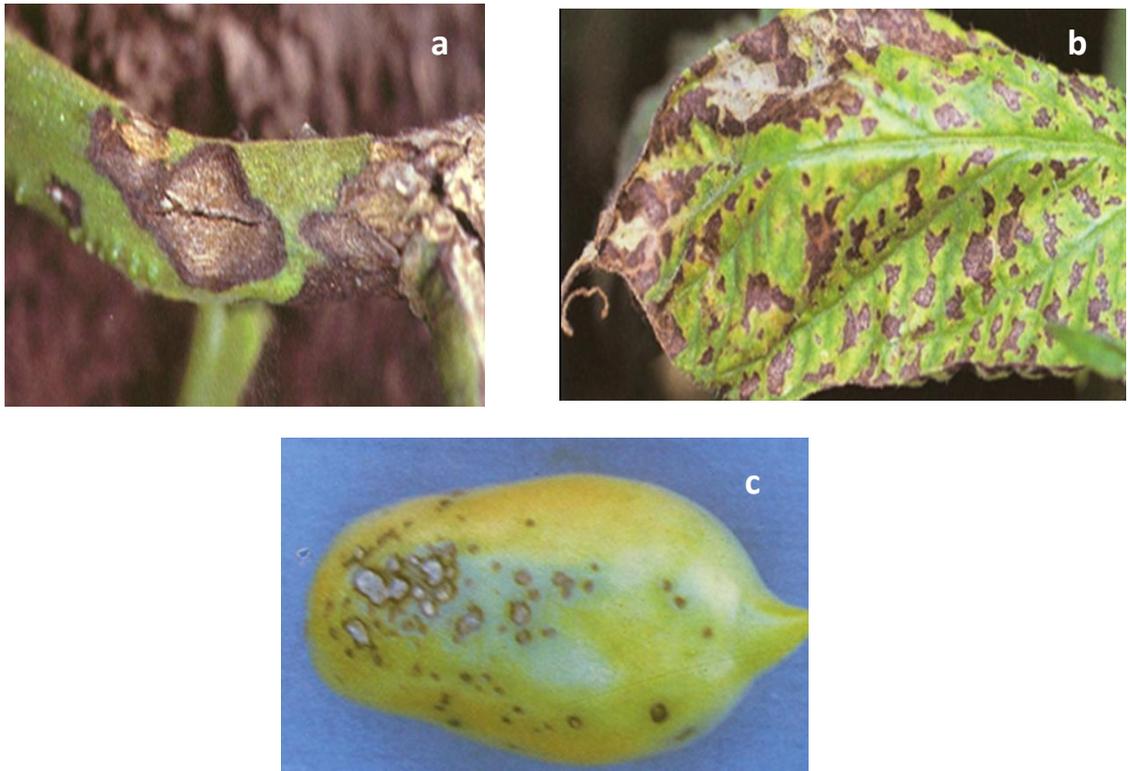


Figure 1.2. : Les chancres d'*Alternaria* causés par *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* [40].

(a : Chancre sur tige, b : Lésion nécrotique sur feuille, c : Chancre et lésion sur fruit)

1.1.4.2. *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani J.G. Kühn 1858 est un pathogène tellurique. Parmi ses nombreuses plantes hôtes, on retrouve aussi bien toutes les catégories de plantes cultivées que des adventices. Les maladies causées par ce champignon portent des noms divers: rhizoctone noir, maladie des manchettes, variole des tubercules, pied noir, toile ou fonte des semis, «crater-rot», «web-blight», verse parasitaire, pourriture du collet etc. Les *Rhizoctonia* inféodés aux cultures maraîchères sont virulents et causent des pertes de rendements importantes et coûteuses [40].

Le champignon pénètre dans la plante directement à travers la cuticule ou par les stomates. Les attaques sont favorisées par des dégâts préalables causés par des ravageurs comme les nématodes ou par des outils [39,40].

Les conditions optimales pour son développement sont des températures du sol variant de 15-18°C et une humidité élevée. Lorsque la température dépasse ces valeurs, la pathogénicité de *Rhizoctonia solani* diminue. En conditions idéales, il peut ne s'écouler que 3 à 4 jours entre l'infection et l'apparition des premiers symptômes. Le mycélium de *Rhizoctonia solani*, de couleur brunâtre à brun foncé, est constitué d'hyphes relativement épais. Il est caractérisé par un aspect réticulé dont les embranchements partent à angles droits [36,37]. *Rhizoctonia solani* se conserve souvent en concentrations élevées dans les sols sous forme de mycélium dormant ou de sclérotés de 1-3 mm fixés à des résidus végétaux à partir desquels il se disperse [40].

Le champignon peut aussi être transmis d'une parcelle à une autre par des parties de plantes infectées ou contaminées (tubercules) ou par du sol. Les sclérotés germent lorsque la température dépasse 13-15°C pour infecter des racines ou des parties de plantes restant sur le sol. Un sclérote peut étendre son mycélium sur une distance atteignant 7-10 cm jusqu'à trouver une plante hôte [39].

Rhizoctonia solani est souvent responsable de la fonte des semis. Les racines de ceux-ci pourrissent et entraînent le dépérissement par foyers au niveau des pépinières de cultures maraichères [41].

Les symptômes d'attaques de *Rhizoctonia solani* se développent de manière variée selon les plantes hôtes. Les tomates peuvent être attaquées en pépinière déjà, ou plus tard sur les tiges, les racines, les feuilles et les fruits (Fig. 1.3.). En général, les fruits et les feuilles ne sont infectés qu'en contact avec le sol. L'attaque sur les racines et les tiges affaiblit la plante, entraîne une diminution des apports d'eau et de nutriments et ouvre des portes à d'autres organismes pathogènes [39, 40,41].



Figure 1.3. : Symptômes de pourriture des fruits de la tomate causée par *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn 1858 [41].

1.1.4.3. La fusariose vasculaire causée par *Fusarium oxysporum*

Parmi les maladies causées par *Fusarium. oxysporum* (Sacc.) W.C. Snyder and H.N. Hans, on trouve le flétrissement vasculaire aussi appelé fusariose vasculaire (vascular wilt), la pourriture racinaire et du collet (root rot, crown rot) et la pourriture des semis (damping-off). La dénomination fusariose est utilisée de façon moins spécifique et peut indiquer tout syndrome causé par un *Fusarium*. De ces maladies, le flétrissement vasculaire est la maladie qui provoque les plus grandes pertes et dans un grand nombre de plantes cultivées, telles que des légumes, des fleurs, et des cultures tropicales [42].

F. oxysporum est un habitant du sol où il croit sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydospores. Les chlamydospores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies [43, 42]. En présence d'une plante hôte, le mycélium envahit les racines suite à la pénétration de l'épiderme [43] et on observe le développement des symptômes de la maladie

chez la plante [44]. A côté des souches pathogènes, ils existent des isolats non pathogènes qui colonisent les racines des plantes sans induire des symptômes de maladie [42].

Le genre *Fusarium* est connu pour produire une large gamme de toxines (mycotoxines et phytotoxines). Chez *F. oxysporum* deux toxines ont été identifiées capables d'induire à elles seules des symptômes. Il s'agit de la lycomarasmine et de l'acide fusarique. Leur production *in planta* a été démontrée pour le dernier chez plusieurs plantes infectées, tels le coton, la tomate ou le pois, indiquant qu'ils pourraient jouer un rôle dans l'induction de la maladie. Cependant la production de cette toxine ne peut pas être corrélée systématiquement avec la pathogénicité du champignon [45].

D'une manière générale, des symptômes sous forme de chancres mous, brun foncés ou noirs sur la tige, au niveau des nœuds ou des plaies peuvent apparaître. Ces chancres peuvent ceinturer la tige dans les derniers stades de la maladie. Une tache brune foncée colore l'intérieur de la tige et peut s'étendre sur une longueur considérable (Fig. 1.4 et 1.5.). Enfin, peuvent apparaître, sur les lésions, des structures de couleur cannelle ou orange pâle minuscules (< 1 mm de diamètre), en forme d'ampoule, que l'on appelle les périthèces et qui sont les fructifications sexuées du champignon pathogène. À la surface des chancres de la tige, dans les derniers stades de la maladie, la présence de mycélium sous forme d'une masse cotonneuse blanche, qui représente le stade imparfait du champignon peut apparaître. Les chancres de la tige entravent le passage de l'eau vers le haut de la plante, qui, mal irriguée, finit par flétrir et mourir. Sur les fruits, autour du calice, des taches aqueuses noires deviennent évidentes. Ces dernières grossissent, se rejoignent en recouvrant les flancs des fruits. Le mycélium se développe abondamment lorsque l'ambiance de la serre est très humide et en particulier quand la température dépasse 25 °C.



Figure 1.4. : Brunissement de tissu vasculaire causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*[40].



Figure 1.5. : Pourriture des racines avec brunissement des tissus vasculaires causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*[40].

1.2. Généralités sur les ravageurs animaux de la tomate

1.2.1. Les thrips et les aleurodes

Principalement *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) et *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856). Ces insectes sont des ravageurs de première importance, notamment suite aux viroses qu'ils peuvent transmettre [46]. Les espèces les plus fréquentes sont :

Trialeurodes vaporariorum et *Bemisia tabaci*, principalement sur tomate et cucurbitacées. Récemment, une nouvelle espèce a été signalée sur solanacées ; il s'agirait d'*Aleurotrachelus trachoides* Back, 1912, originaire de la région américaine [47].

Les aleurodes sont des espèces très polyphages. Les dégâts directs se produisent suite au prélèvement de la sève et la production du miellat qui favorise le développement de la fumagine. L'activité photosynthétique se trouve alors perturbée. Le grand danger des mouches blanches réside dans la transmission de maladies virales principalement la maladie des feuilles jaunes en cuillère (TYLCV).

Cette maladie peut causer des dégâts considérables [48, 49]. La mouche blanche constitue le problème le plus important de ce type de culture dont le développement a été ralenti en raison des dommages occasionnés par cet insecte. Il a été également prouvé qu'une pulvérisation quotidienne des cultures n'empêchait pas la mouche de propager le virus [49].

Les mouches blanches se développent à des températures variant de 10°C à 32°C ce qui leur confère des possibilités de se maintenir et se multiplier presque toute l'année en culture de tomate sous serre [50]. A la température de 22°C constant, les femelles de *Bemisia tabaci* vivent en moyenne 33,2 jours, pondent 163,9 œufs dont 125,9 donneront un adulte en fin de développement. La littérature rapporte pour *Trialeurodes vaporariorum* des résultats très variable en fonction de la plante hôte. Il en ressort néanmoins que la longévité et la fécondité des femelles de *Trialeurodes vaporariorum* sont supérieures à celles de *Bemisia tabaci* à la température de 22°C [51].

Le développement des stades pré imaginaires de *Bemisia tabaci* est fortement ralenti à des températures de 17°C constant et est accompagnée d'une mortalité importante (76%). A une température de 27°C, la durée de développement totale de *Bemisia tabaci* est inférieure à celle de *Trialeurodes vaporariorum*. A noter que les seuils de développement minimal de *Bemisia tabaci* et de *Trialeurodes vaporariorum* sont respectivement de 13-14°C et 8-9°C [52].

1.2.2. Les pucerons

Principalement : *Aphis gossypii* (Galver) ; *Aphis fabae* (Scopoli) ; *Myzus persicae* (Sulzer) ; *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) ; *Aulacorthum solani* (Kaltenbach). Les différentes espèces se distinguent selon les critères

morphologiques, mais aussi grâce à la connaissance de la plante sur laquelle elles ont été observées et les dégâts qu'elles y ont éventuellement causés. Cette identification est indispensable si l'on veut mener une lutte à l'aide d'auxiliaires, notamment sous serre [53].

On trouve souvent de grandes colonies de pucerons à la surface inférieures des feuilles. Ils se nourrissent en suçant la sève des plants et excrètent une substance collante, le miellat, à la surface du plant [54].

Parmi les symptômes de l'infestation, citons l'accumulation de miellat et la présence d'exuvies blanches sur les feuilles, les tiges et les fruits. Même s'ils sont relativement peu nombreux, les pucerons peuvent causer des pertes économiques importantes en détruisant les fleurs quand ils s'alimentent et en déposant le miellat sur les fruits [54,55].

Le miellat sert de nourriture à la fumagine qui à son tour empêche la lumière de pénétrer, interrompt la photosynthèse et abaisse la qualité des fruits. De graves infestations de pucerons provoqueront la chute des feuilles, un rabougrissement et une déformation du plant. Les colonies denses de pucerons affaiblissent les plantes en prélevant la sève dont ils se nourrissent et provoquent des déformations des feuilles. Parfois, leur seule présence, même en l'absence de dégâts, entraîne la dévalorisation de certains légumes comme la laitue [56].

Les pucerons produisent également un miellat sur lequel se développent des champignons noirs ou fumagines, qui entravent la photosynthèse des plantes. De plus, ils sont capables de transmettre des virus aux plantes. Les pucerons se multiplient extrêmement rapidement et se dispersent facilement sur de longues distances. Le temps de génération est rendu très court grâce à un mode de reproduction sans sexualité (parthénogenèse) et à une viviparité. A la saison favorable, une semaine seulement suffit au développement complet d'une génération [53].

1.2.3. Mouches Mineuses

Les principales espèces rencontrées sont *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) et *Liriomyza trifolii*. (Burgess).

Les dommages causés par les mouches mineuses sont de deux ordres: Les dégâts directs sont occasionnés par la pourriture des larves à l'intérieur des feuilles et par les piqûres nutritionnelles des adultes. Une forte densité de mines peut considérablement réduire la photosynthèse et assurer une dessiccation et une chute prématurée des feuilles même sur les plants adultes alors qu'un nombre élevé de piqûres nutritionnelles est fort préjudiciable pour les jeunes plants de pépinières.

Les dégâts indirects sont représentés par la possibilité de transmission de viroses par les adultes de *Liriomyza* sur céleri et pastèque [57]. Peu de travaux ont été réalisés pour mettre en évidence une relation entre le nombre de mines par feuille et les pertes de rendements. Une première approche du seuil de nuisibilité a été réalisée par LEDIEU et HELYER [58] qui le fixe à 15 mines par feuille pour *Liriomyza bryoniae* si les feuilles sont adjacentes au fruit. Une corrélation élevée a été obtenue entre le rendement d'un bouquet et le pourcentage de mines présentes sur les feuilles surplombant le bouquet par WYATT *et al* [59].

La chute de rendement est directement liée au nombre de mines (30 mines / feuilles correspond à 10% de pertes ; 60 mines par feuille correspond à 20% de perte). Il a pu être démontré par JOHNSON *et al* [60], que les taux de photosynthèse sont considérablement réduits dans les feuilles présentant de nombreuses mines de *Liriomyza*.

1.2.4. Mineuse de la tomate *Tuta absoluta* Meyrick, 1917

1.2.4.1. Origine et distribution géographique

La mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* est un ravageur émergent de la tomate (*Solanum lycopersicum* L). Cette espèce décrite initialement sous le nom de *Phthorimaea absoluta* (Meyrick, 1917), a été classée plus tard dans le genre *Scrobipalpuloides* en 1987 ; bien que la proposition du nom exacte à retenir soit *Tuta absoluta* [16, 61], le nom de l'auteur le plus utilisé reste Meyrick [62].

Cet insecte est reconnu mondialement comme un important ravageur de cette culture [63, 64, 65, 66, 67]. Le déprédateur, comme sa plante hôte est originaire d'Amérique du Sud, il a été décrit pour la première fois au Pérou par l'entomologiste Meyrick en 1917 [68].

L'insecte s'est rapidement propagé sur l'ensemble des pays d'Amérique latine [69], depuis le début des années soixante en devenant le ravageur le plus dévastateur de la tomate [70, 71, 14]. Actuellement, sa présence est signalée dans tous les pays d'Amérique du Sud [66, 17, 72, 73, 74]. Il fut signalé en Chili et en Argentine en 1964 [64, 75]. Au Brésil, il a été mis en évidence en 1980 [71, 67, 76]. D'autres pays de la région comme la Colombie, l'Equateur, le Paraguay, l'Uruguay, le Venezuela sont touchés par ce ravageur [77, 70,78, 79,80] (Fig.1.6.). NOTZ [81] laisse supposer que l'insecte n'a pas été signalé dans les Andes à une altitude supérieure à 1000 m, sans doute à cause des températures basses qui ne permettent pas d'assurer sa survie et son développement.



Figure 1.6. : Aire de répartition de la mineuse dans le monde [60]

(●) [82], (●) [83, 84], (●) [85, 86].

Mais au cours de ces dernières années, il s'est rapidement propagé à l'échelle du bassin méditerranéen et, plus récemment encore, s'est établi en milieu serricole dans le nord de l'Europe.

Tuta absoluta cause des dommages très importants aux plants de tomate. Les fruits endommagés sont impropres à la vente. Aucune des mesures de lutte courantes ne semble efficace contre ce ravageur en milieu serricole.

En France, la mineuse *Tuta absoluta* a été signalée pour la première fois en Octobre - Novembre 2008 en Corse (régions d'Ajaccio, de Propriano, de Bastia) [87, 88]. Au Maroc, la mineuse de la tomate fait sa première apparition en Mai 2008 dans la plaine de Bouaâreg (province de Nador) et a entraîné des dégâts très importants sur la tomate sous serre et de plein champ [89]. La Tunisie n'a pas été épargnée par les attaques de ce ravageur, car les 1^{ères} attaques ont été observées sur tomate fin Octobre 2008 [85,89].



Figure 1.7. : Carte de distribution dans la région méditerranéenne

: P  sence de *Tuta absoluta* Meyrick, 1917

En Algérie elle a été signalée pour la première fois en mars 2008 dans la région maraîchère de Mostaganem. Il s'agit d'un microlépidoptère, *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) (Fig. 1.7.). Cette mineuse a été observée sur les cultures de tomate sous abris et en plein champ, puis elle s'est propagée dans les régions côtières d' Oran, Tipaza, Biskra et Jijel, elle a gagné du terrain depuis son apparition et son aire de présence en Algérie et dans le monde s'est agrandie. Ce ravageur a été la cause de la destruction spectaculaire des cultures de tomate qui peuvent atteindre 100% [81].

1.2.4.2. Description

Les adultes (Fig.1.8.) de *Tuta absoluta* sont de 5-7 mm de long et d'une envergure de 8-10 mm. L'adulte a des antennes filiformes. Ils ont deux paires d'ailes de coloration grisâtre. Les ailes antérieures sont mouchetées de taches gris obscur, plus ou moins importantes, comprises dans un fond de couleur crème. Les ailes postérieures sont bordées d'une rangée de soies serrées et allongées. [63, 64,90].

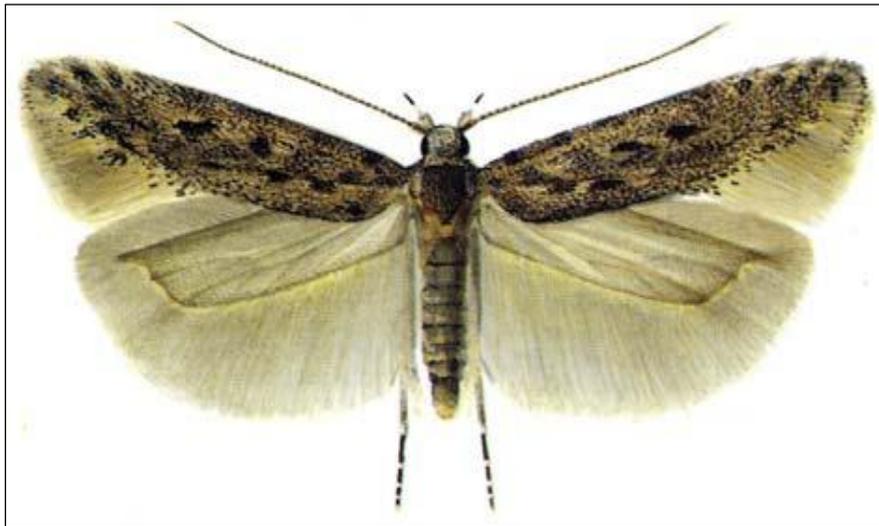


Figure 1.8. : Adulte de *Tuta absoluta* Meyrick 1917[91].

L'œuf ovale à chorion réticulé, mesure 0.35mm de long. A la ponte, il est de couleur blanche perlée. Durant son développement, Il passe progressivement par le jaune clair, le jaune, l'orange et devient terne à maturité. Le jour précédent l'éclosion, il prend une coloration marron claire étant donné la différenciation de la plaque céphalique et du bouclier prothoracique de la larve [63, 90, 92, 64, 93, 94].

La larve néonate de couleur blanche crémeuse avec la capsule céphalique et le bouclier prothoracique marron foncé, mesure 0.85 mm de long. Les 4 stades larvaires (Tableau 1.1.) peuvent être reconnus selon la largeur de la capsule céphalique, la longueur du corps, la couleur et la forme de la galerie [90,95, 96, 94].

Tableau 1.1. : Caractéristiques des différents stades larvaires de *Tuta absoluta* Meyrick 1917[69].

Stade larvaire	Mensurations	Couleur	Forme des galeries
L1	1,6 mm	Claire	Rectiligne
L2	2,8 à 3 mm	Verte	Sinueuse développée
L3	4,5 à 4,7 mm	Verdâtre (plus foncé)	Sinueuse bien développée
L4	7,3 à 8 mm	Rose clair ou rouge carmin	Sinueuse très développée

La nymphe est couverte par un cocon de soie déposé sur le feuillage, le sol ou les fruits, suivant l'état phénologique de la culture et du système de production [97, 98]. Dans le sol, la larve forme superficiellement un cocon de soie adhérent aux particules de terre et aux débris végétaux [63, 95, 64, 93, 98].

1.2.4.3. Biologie

La mineuse de la tomate traverse quatre stades de développement (œuf, larve, nymphe et adulte). Son cycle biologique dure 26 jours à une température de 24 à 26°C. Les mineuses ne peuvent survivre à l'extérieur en hiver ; cependant elles arrivent à le faire dans les débris des végétaux laissés dans la serre ou dans des aires protégées.

L'insecte peut hiverner aux différents stades : œuf, nymphe ou adulte [91]. Les adultes sont des noctuelles qui vivent dans la végétation pendant le jour. La femelle pond ses œufs dans la partie aérienne de la plante hôte et peut déposer jusqu'à 260 œufs durant sa vie. Après éclosion des œufs, les jeunes larves pénètrent dans les feuilles, tiges ou fruits pour s'alimenter en provoquant des mines. Les larves passent par quatre stades, avant de se nymphoser sur les feuilles dans les galeries ou dans le sol [68].

La biologie de cette espèce a été étudiée dans plusieurs pays d'Amérique du Sud sur tomate et autres solanacées. Les activités de dispersion et d'accouplement sont effectués pendant les deux premières heures de l'aurore, entre le 5 h 30 et le 7 h 30 du matin [99, 98].

La durée de l'accouplement, la pré-oviposition et l'oviposition des adultes est affectée par plusieurs facteurs environnementaux comme la température, l'humidité relative et l'alimentation. Quand la température varie entre 24-25°C et l'humidité entre 70-80%, l'accouplement s'effectue entre 16 et 24 heures après émergence. Les femelles commencent l'oviposition approximativement 1 jour après l'accouplement [90, 64]. La ponte des œufs commence de 2 à 3 jours après l'émergence [96]. En général, chaque femelle peut déposer une moyenne de 40 à 55 œufs [84, 92, 64, 96] ; bien qu'on ait obtenu des valeurs maximales de 100 à 300 œufs par femelle [95, 93]. Bien que la période d'oviposition peut varier en moyenne de 4 à 16 jours [90, 95, 64, 93, 96], le taux de ponte est le plus important le premier jour. Il diminue ensuite considérablement [95, 93]. Pendant les sept jours suivant l'accouplement, la femelle dépose 76% du total des œufs [98]. La longévité des adultes varie selon l'alimentation et le sexe. La longévité des femelles est plus grande que celle des mâles [90, 92, 93].

Les œufs sont déposés isolés, préférentiellement sur les feuilles; bien qu'ils peuvent être déposés sur les tiges et le calice des fleurs et fruits. Ils sont déposés pour la plupart adjacents aux nervures des feuilles [90, 95, 64].

A son émergence de l'œuf, la larve perce un orifice presque circulaire à l'extrémité du chorion [93]. La larve néonate commence à perforer l'épiderme créant ainsi un orifice de pénétration dans l'épiderme des feuilles, des bourgeons, inflorescences et fruits de différents degrés de maturation, selon l'état phénologique de la culture (Fig. 1.9.).

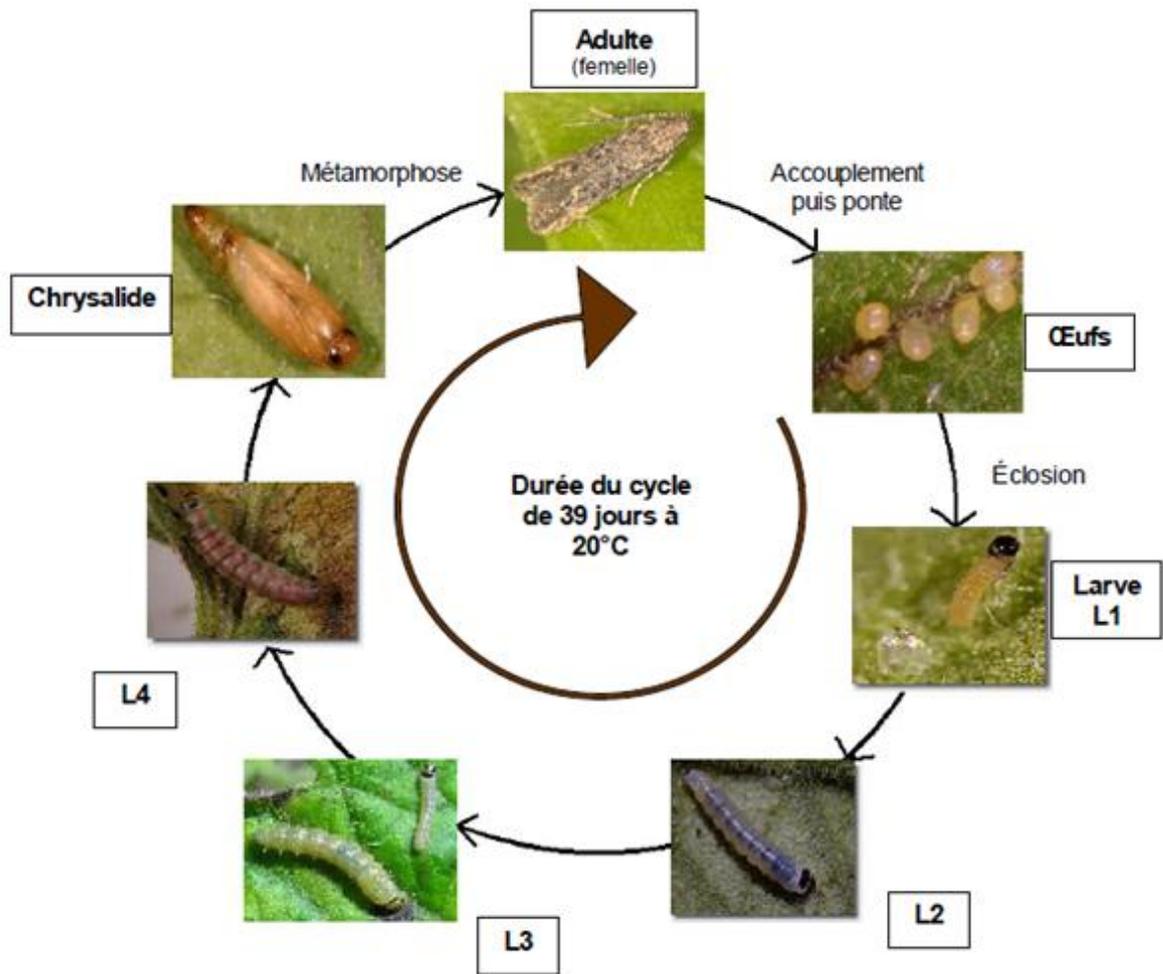


Figure 1.9. : Cycle de vie de *Tuta absoluta* Meyrick1917[100].

Les larves des différents stades confectionnent des mines caractérisées par la présence d'excréments bruns [101, 102]. La période larvaire dure environ de 11,9 à 14 jours [103, 89, 104]. En fin de cycle, la larve aura consommé 2,8 cm² de la surface foliaire, dont 2,2 cm² par le 4^{ème} stade [14].

Les chenilles sont actives et se déplacent dans différentes parties de la plante dans les heures les plus chaudes de la journée, principalement pour le troisième et quatrième stade où les dégâts sont plus importants [15].

Au stade prénymphal, l'insecte cesse de s'alimenter. Avant de se métamorphoser, la chenille quitte la galerie et se laisse transporter par un fil de soie sur le sol où se déroule la nymphose jusqu'à l'émergence. La chrysalide reste dans le sol environ 6 à 10 jours avant l'émergence [105, 102, 104, 106].

Le cycle de vie de cet insecte peut durer de 29 à 38 jours selon les conditions environnementales. Au laboratoire, le cycle complet de *T. absoluta* varie de 26 à 38 jours à une température de 24°C, avec un chevauchement des générations [104].

1.2.4.4. Symptômes et dégâts

Les chenilles de *T. absoluta* attaquent le mésophylle foliaire sans toucher à l'épiderme. Les feuilles attaquées peuvent se nécroser (Fig. 1.10.). L'attaque des bourgeons peut provoquer leur mort et compromettre la croissance de la plante. Des orifices de pénétration de la chenille dans les tissus sont bien marqués sur les fruits, les tiges et les feuilles. Les chenilles attaquent habituellement les feuilles, mais elles peuvent également infester les bourgeons et les fleurs, tandis que les chenilles plus âgées préfèrent généralement les fruits, en particulier lorsque les populations sont élevées. Les fruits attaqués sont déformés et présentent de petites perforations et des trous de sortie. La surface des fruits mûrs peut présenter des cicatrices [107] (Fig. 1.11.).

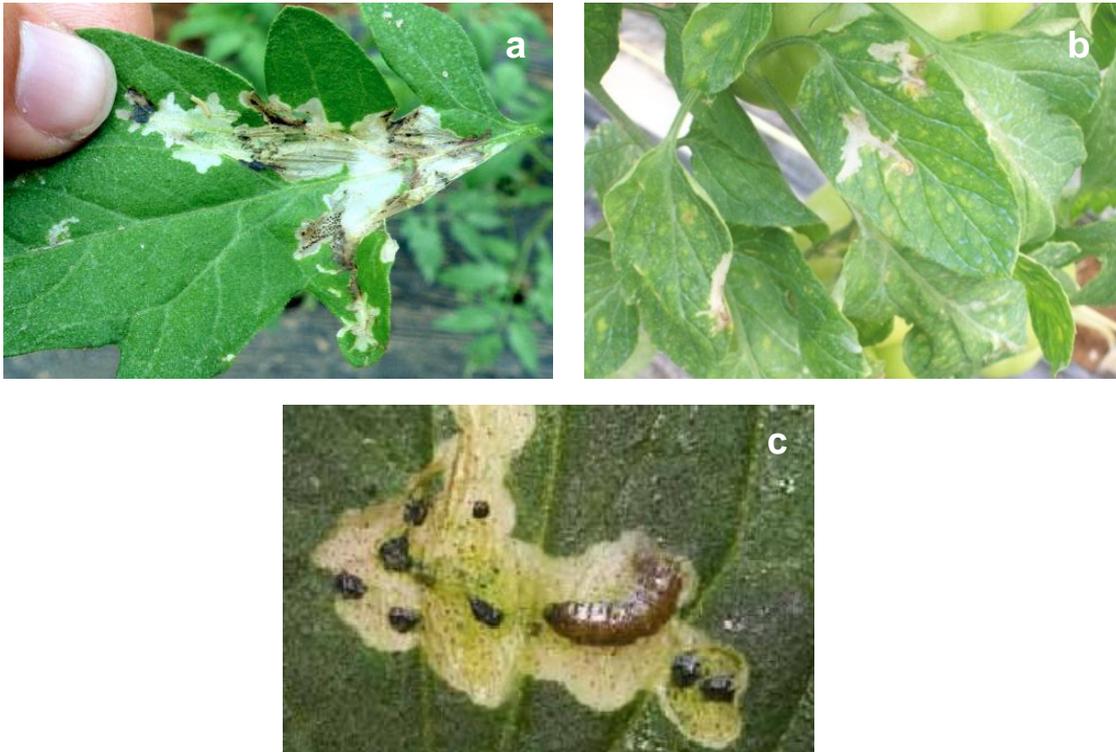


Figure 1.10. : Dégâts de *Tuta absoluta* sur les feuilles de tomate [100].

(a : Galeries blanchâtre creusées par les larves, b : dispersion des mines sur feuillage, c : Larve localisée entre les épidermes foliaire).

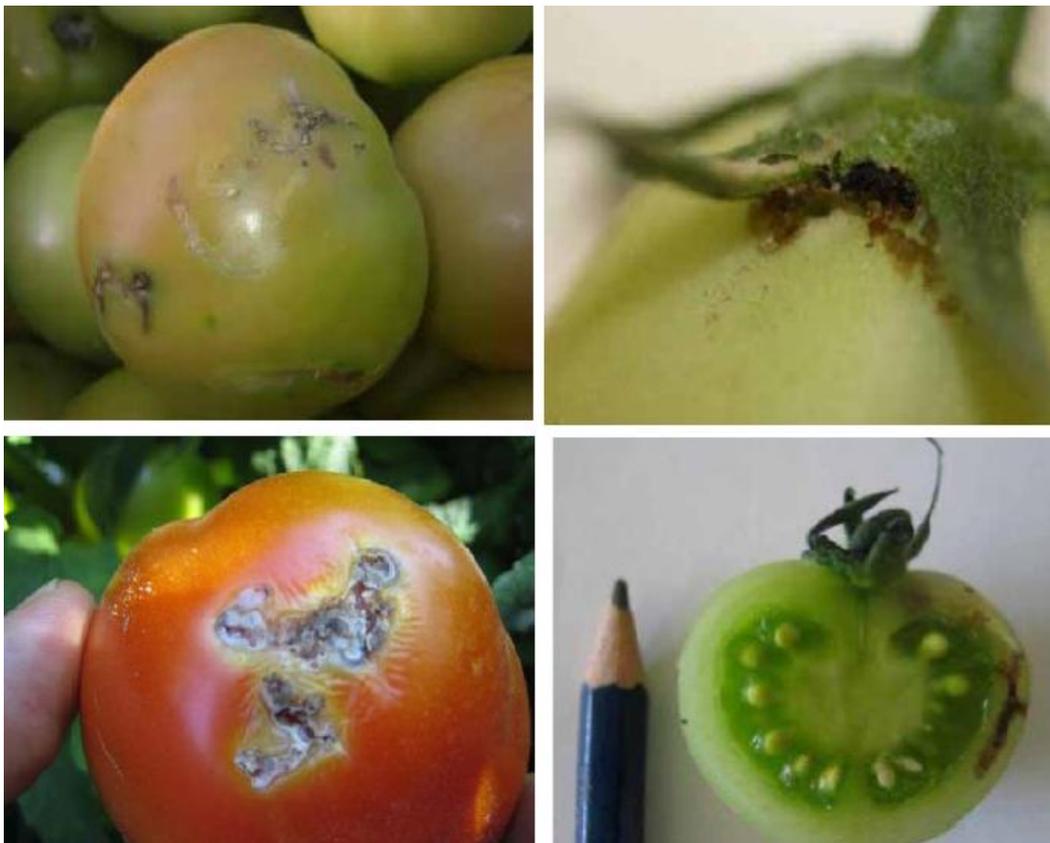


Figure 1.11. : Dégâts causés par les larves de *Tuta absoluta* sur les fruits [100].

1.2.4.5. Gamme d'hôtes

La préférence des hôtes de *Tuta absoluta* entre les espèces végétales cultivées sont: la tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*), la pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*), l'aubergine (*Solanum melongena*), les piments (*Capsicum sp*) et le tabac (*Nicotiana tabacum L.*). Ainsi que les solanacées mauvaises herbes comme, la morelle noire (*Solanum nigrum L.*) et la stramoine (*Datura stramonium L.*) [108, 109].

1.2.4.6. La sensibilité variétale

La sensibilité est l'incapacité d'une variété à restreindre la croissance et le développement d'un pathogène ou d'un ravageur déterminé. Dans le cadre d'un établissement d'une stratégie de lutte, ces résistances sont obtenues par croisement avec les espèces sauvages de *Solanum* (croisements sexués ou culture de protoplastes). Les tomates hybrides ainsi obtenues comportent de nouveaux gènes; par exemple, pour la tomate le mildiou (*Phytophthora infestans*) est contrôlé par le gène Ph-2, la résistance au virus de la mosaïque du tabac (ToMV) par les gènes tm-1, tm-2.

CHAPITRE 2 : BIOPESTICIDES ET PERSPECTIVES DE LUTTE

Les plantes, comme tous les organismes vivants, subissent l'action de divers parasites. Qu'ils soient végétaux ou animaux, ces organismes nuisibles s'attaquent directement aux tissus des plantes (champignons, insectes...) où ils leur font concurrence sur le plan des ressources (air, eau, éléments nutritifs du sol...). Pour des raisons autant pratiques qu'économiques, la culture des plantes s'est développée sur des surfaces relativement grandes réservées à la monoculture. Cela simplifie les systèmes écologiques, le plus souvent au détriment de la complexité inhérente au milieu naturel d'origine. Les populations d'organismes nuisibles ont alors tendance à augmenter ce qui accentue la gravité des dommages potentiels infligés aux cultures [110].

La contamination incontrôlée des champs de pomme de terre par le champignon pathogène *Phytophthora infestans* est la cause directe de la famine qui a frappé l'Irlande au milieu du XIXe siècle et les dommages causés par les insectes sont parfois si sévères que la récolte est complètement perdue [111]. La compétition entre les plantes cultivées et les mauvaises herbes entraîne de grandes pertes de rendement allant de 24 % à 99 % [1112]. Globalement, les pertes avant récolte sont de l'ordre de 20 à 40 % tandis que les pertes post-récolte (denrées stockées) représentent 10 à 20 % [3].

Les impératifs de rentabilité qui imposent des rendements élevés en produits végétaux de qualité, associés à la spécialisation des cultures par région, font de la protection des plantes une activité vitale en agriculture et en foresterie.

La lutte contre les ennemis des cultures a fait d'énormes progrès au cours du 20^e siècle. Ces progrès ont été rendus possibles par des percées scientifiques et techniques notamment en chimie (analytique et de synthèse) et en biologie

(dynamique des populations, analyse des écosystèmes, théorie et pratique de la lutte biologique, biotechnologie).

La croissance démographique qui caractérise cette fin du deuxième millénaire pose le problème de la sécurité alimentaire. La population mondiale était évaluée à 5,7 milliards en 1995 et devrait se stabiliser entre 7,9 et 11,9 milliards vers 2050. Cette croissance de la population sera le facteur principal d'accroissement de la demande alimentaire mondiale avec pour résultat un besoin accru de méthodes de protection des plantes de plus en plus performantes [113]. La réduction des surfaces cultivables en raison de l'urbanisation et de l'érosion des sols vient amplifier le problème (fig. 2.1).

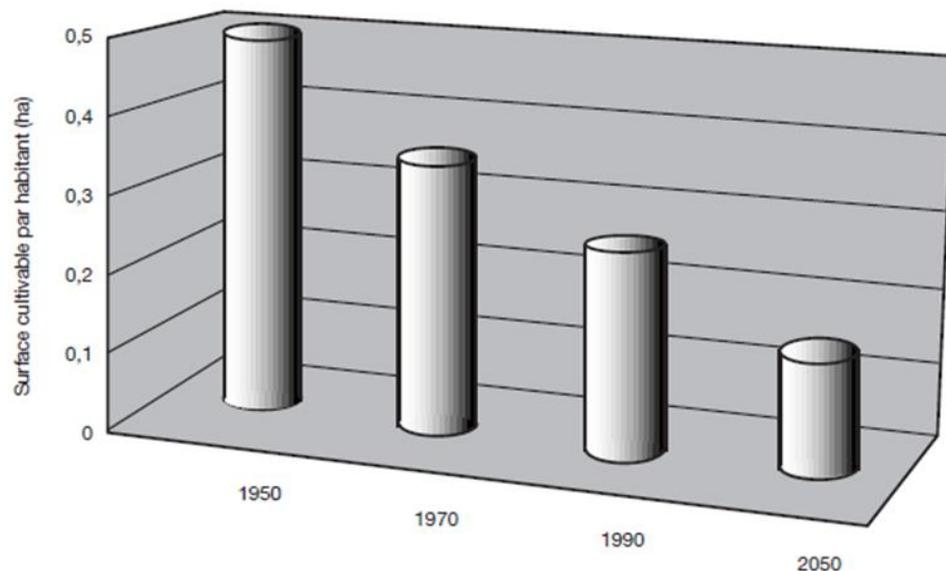


Figure 2.1. : Réduction des surfaces cultivables par habitant [114].

Les facteurs agissant sur l'équilibre entre l'approvisionnement agro-alimentaire et la demande en aliments sont nombreux et complexes. Cela ouvre de nombreux axes d'action pour créer et maintenir cet équilibre. Toutefois, il y a aujourd'hui consensus autour de l'idée que *« l'augmentation de la production agricole et alimentaire est la clé d'un approvisionnement alimentaire suffisant. La sécurité alimentaire exige une action soutenue. Cette action doit viser la mise au point et la diffusion de nouvelles technologies respectueuses de l'environnement »* [115].

2.1. Les pesticides, utilisation et limites

Avec l'apparition des pesticides de synthèse il y a environ 50 ans, certains ont imaginé que les ennemis des cultures seraient battus en brèche et éliminés [116]. De toute évidence, cela ne s'est pas produit. Toutefois, l'augmentation de la quantité et de la qualité des denrées agricoles produites n'est certainement pas étrangère à l'utilisation des pesticides et les agriculteurs ayant accès aux pesticides de synthèse sont rarement victimes d'infestations dévastatrices [117].

Selon METCALF [118], les avantages des pesticides se résument par les qualités suivantes: facilité de mise en œuvre, simplicité d'emploi, efficacité, flexibilité d'utilisation et coût économique raisonnable. Pour les insecticides par exemple, ces avantages peuvent être résumés comme suit :

Ils représentent le seul moyen d'intervention efficace sur des populations de ravageurs dont la densité dans la culture s'approche du seuil économique des dégâts. Il faut agir vite, sans perte de temps, et il faut que l'effet soit immédiat, sous peine de dépasser ce seuil ;

Ils ont une action curative rapide et sont susceptibles de stopper la dynamique d'une population de ravageurs en quelques jours, voire en quelques heures. Les insecticides organiques de synthèse appartiennent à des groupes chimiques différents, comportent des modes d'action et des conditions d'emploi très variés, ce qui permet une « couverture » remarquable des nombreuses situations d'attaque des plantes par les ravageurs ;

Le rapport coût/bénéfice du traitement insecticide est en général très avantageux s'il s'agit d'un produit pour grandes cultures. En effet, les insecticides des grandes cultures sont produits en quantités importantes, pour une utilisation mondiale et peuvent donc être obtenus à bas prix. Néanmoins, leur prix augmente puisque la synthèse de nouvelles molécules plus complexes et l'étude approfondie

de leur toxicologie a fait croître les coûts de recherche et de développement de façon exponentielle.

La convergence du marché vers des formulations pour application sous forme liquide a permis une uniformisation des méthodes d'application. Aujourd'hui, le pulvérisateur est, sur la plupart des exploitations agricoles, la seule machine nécessaire pour tous les traitements de protection des cultures. Cette standardisation permet une réduction des coûts de machinerie et facilite le travail du personnel qui réalise les traitements.

2.1.1. Résistance :

La résistance aux pesticides touche les insecticides, les herbicides aussi bien que les fongicides (voir encadré). Le phénomène n'est pas nouveau. La résistance aux insecticides a été signalée pour la première fois en 1914 [110]. La résistance aux fongicides est un problème préoccupant depuis la mise sur le marché des fongicides modernes [119].

Par ailleurs, on avait déjà signalé quelques cas de résistance aux herbicides avant la découverte de la résistance de *Senecio vulgaris* L. aux triazines en 1968 [120]. Le taux de croissance du nombre d'espèces d'insectes ou de mauvaises herbes ayant développé une résistance aux pesticides est évoquant (fig. 2.2.).

Depuis les années 70, ces taux sont relativement constants malgré la prise de conscience du phénomène et les efforts pour mettre en pratique des stratégies visant à freiner le développement de populations résistantes.

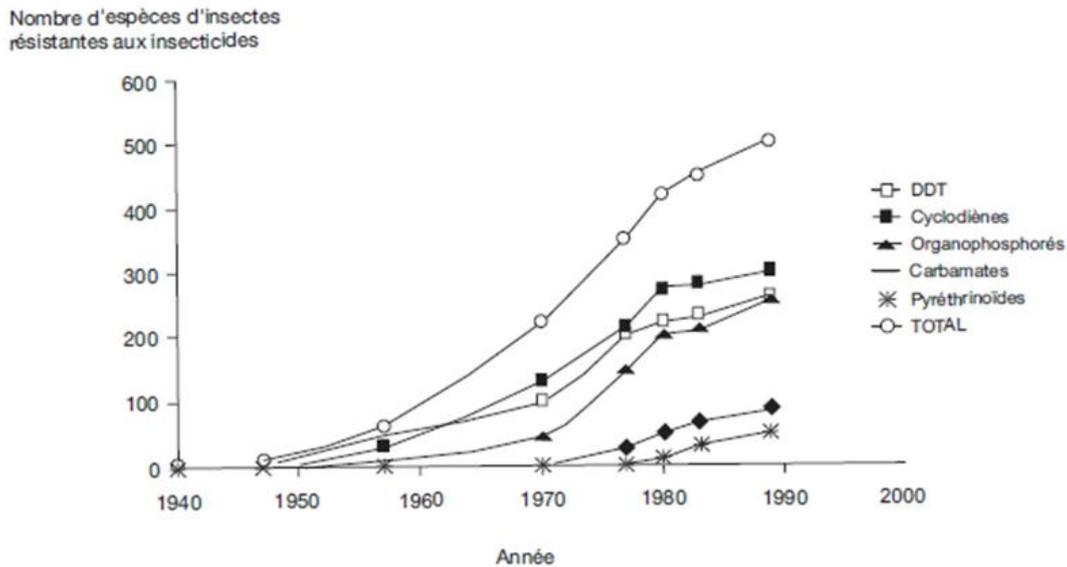


Figure 2.2. : Évolution du nombre d'espèces d'insectes résistants [110].

Entre 1980 et 1990, le taux de croissance moyen de la résistance a été de 7 espèces d'insectes par an (fig. 2. 2) et de 10 biotypes de mauvaises herbes par an [120]. Il est aujourd'hui clair que la résistance peut se développer à l'égard de tout produit phytosanitaire. L'apparition de cas de résistance croisée à des substances actives à cibles physiologiques différentes, heureusement plus rare, constitue néanmoins un facteur d'aggravation du risque d'échec. Cela limite les possibilités d'un usage prolongé des matières actives nouvelles en protection des plantes [119]. En conséquence, cet usage ne peut plus être envisagé en dehors des programmes de lutte intégrée qui vont contrecarrer l'apparition de résistance. Ce contexte est favorable au développement et à l'intégration des outils de lutte physique venant enrichir ces programmes qui ne peuvent en aucun cas être basés sur le tout-pesticide pour les raisons évoquées ci-dessus [110,119].

2.1.2. Impact sur la disponibilité faunistique

Les effets secondaires de l'utilisation des pesticides sont nombreux; effets sur la santé des personnes, de la faune et de la flore, contaminations des eaux, du sol et de l'air. PIMENTEL *et al.* [121], avancent le chiffre impressionnant de 3 millions d'empoisonnements par an dans le monde par les pesticides avec 220 000 morts au total, chiffres officiels de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

En 1969, Simmons cité par BOUGUERRA [122], estimait déjà à 150 000 le nombre annuel d’empoisonnements par les insecticides et avec, au bout du compte, 150 morts recensés par an. Ces chiffres sont légèrement inférieurs aujourd’hui. Néanmoins, les estimations les plus fiables ne concernent que les pays industrialisés. Ailleurs, les accidents fatals sont probablement plus nombreux. En 1991 en France, plus de 8 500 intoxications par les produits phytosanitaires ont été enregistrées [123].

Les indicateurs économiques rassemblés par PIMENTEL *et al.* [121], permettent de comparer l’importance des différents effets secondaires (tableau 1.2).

Tableau 2.1. Coûts sociaux et environnementaux de l’utilisation des pesticides aux Etats-Unis [121].

Impact	Coût relatif (%) Coût total : \$US 8 123 000 000/année soit : 48,7 milliards FF
Oiseaux sauvages	25,8
Contamination des eaux souterraines	22,2
Coûts de la résistance aux pesticides	17,2
Pertes de récolte	11,6
Santé publique	9,7
Pertes d’ennemis naturels	6,4
Abeilles et impact sur la pollinisation	3,9
Encadrement par les services publics (e.g. cadre réglementaire)	2,5
Autres	< 1

Les coûts environnementaux dominent alors que les coûts ayant un impact direct sur la production agricole représentent 39,1 % (résistance, pertes de récolte, pertes d’ennemis naturels et pollinisation). Les coûts en santé publique représentent près de 10 %.

Bien que les indicateurs économiques soient toujours, ils ont l'avantage de permettre une réévaluation de la rentabilité de l'usage des pesticides. Aux États-Unis, on utilise pour une valeur de 4 milliards \$ de pesticides pour récupérer 16 milliards \$ en produits agricoles. Cela semble très rentable, par contre, si les coûts sociaux et environnementaux sont pris en compte, la marge bénéficiaire se réduit considérablement [121].

Au cours des dernières décennies, l'attention portée aux effets secondaires des pesticides a profondément modifié la perception à l'égard des pesticides. De produits quasi-miraculeux, ils sont devenus, pour certains, des produits dangereux que l'on devrait bannir ou, au mieux, un mal nécessaire. L'industrie des pesticides réagit pour modifier cette perception en diffusant des informations montrant les effets secondaires. Par exemple, on fait valoir qu'un verre de jus de pomme provenant de fruits traités avec de l'Alar™ représente un risque 58 fois moins élevé que les éléments cancérigènes que l'on retrouve dans un seul champignon comestible [122].

L'industrie réagit aussi en développant de nouveaux produits satisfaisant aux normes de plus en plus sévères visant la protection de la santé et de l'environnement. Ces critères écotoxicologiques plus exigeants amènent une augmentation importante des coûts de développement de nouveaux produits phytosanitaires. Pour une nouvelle molécule soumise à l'homologation, le coût des études d'impact sur l'environnement a triplé entre 1982 et 1992 [124]. Il résulte de l'augmentation des coûts, que peu de pesticides seront homologués pour des cultures pratiquées sur des superficies relativement restreintes pour cause de marché global insuffisant ou, lorsque l'augmentation de profit associé à l'usage des pesticides ne compense pas son utilisation. Pour ces cultures, les outils de lutte physique pourraient bientôt représenter une alternative intéressante [125].

2.2. La lutte biologique

Dans un contexte d'agriculture durable, la lutte biologique, prise dans son sens large peut offrir de nombreuses méthodes de lutte alternatives aux insecticides de synthèse [2, 125, 126,127]. Plusieurs théories sont fondamentales en lutte biologique, notamment la théorie de la dynamique des populations et la théorie de la quête optimale de nourriture (*Optimal foraging*). En pratique, l'application de la lutte biologique repose souvent sur une multitude d'actions et d'informations complexes et fines. La lutte biologique soulevait beaucoup d'enthousiasme au début du XXe siècle en raison du succès obtenu par *Rodolia cardinalis* Mulsant en Californie [128]. La lutte biologique est séduisante sur le plan scientifique et écologique et son image plaît au grand public. Malgré cela les succès commerciaux de lutte biologique ont été peu nombreux au XXe siècle [129] en raison de ses limites.

On distingue plusieurs stratégies d'application en lutte biologique (tableau 2.2). La première stratégie visant l'exploitation de biocides inertes, est l'approche « biopesticide ». La seconde stratégie est l'exploitation de biocides autonomes, que l'on peut relâcher selon une stratégie de lutte classique, inoculative ou inondative. Il est également possible de favoriser la lutte biologique en intervenant sur le milieu [2].

Tableau 2.2. Stratégies d'application de la lutte biologique [130].

Exploitation de biocides inertes (biotoxines d'origine microbiologique)
Exploitation de biocides autonomes (agents de lutte microbiens ou animaux)
<i>Manipulation directe par libération d'antagonistes dans le milieu</i>
Implantation d'entomophages nouveaux d'origine exotique (lutte classique)
Libération massive d'entomophages démontrés efficaces
Libération inoculative (lutte préventive)
Libération inondative (lutte curative)
Contrôle de <i>Lythrum salicaria</i> L. à l'aide de <i>Galerucella calmariensis</i> L.
<i>Trichoderma spp.</i> sur pourriture des racines.
<i>Manipulation indirecte par modification du milieu</i>
Protection des ennemis naturels par des mesures spécifiques
Obtention de victimes d'appoint à faible densité
Obtention de suppléments nutritifs ou de niches favorables
Rotation des cultures (mauvaises herbes, nématodes, maladies)
Stimulation chimique de l'activité des agents de lutte

2.3. Les biopesticides

Parmi les méthodes de lutte biologique, les biopesticides occupent une place de choix car ils se prêtent souvent à la production de masse requise pour l'industrie et ils s'appliquent avec un pulvérisateur conventionnel ce qui en facilite l'adoption par les producteurs agricoles. Ils sont généralement compatibles avec des méthodes de lutte biologique classiques (ex. lâchers de prédateurs ou de parasites), même s'ils peuvent avoir des effets néfastes sur les organismes utiles [6, 7]. Les biopesticides peuvent être à base de bactéries, champignons, virus, nématodes et d'extraits de plantes.

Jusqu'au début des années 80, la plupart des travaux sur les biopesticides reposaient sur les principes classiques de la pathologie, tels que décrits par TANADA et KAYA [131]. L'avènement des techniques de biologie moléculaire a permis un développement formidable des biopesticides. Un événement important dans ce domaine a été la création de plantes transgéniques dans lesquelles le cristal protéinique du Bt (*Bacillus thuringiensis*) est synthétisé dans les plantes. Annoncé à l'automne 1984 par voie de communiqué de presse par l'entreprise belge PGS (Plant Genetic Systems), cette information a été confirmée plus tard par publication scientifique [132].

Le maïs transgénique génétiquement modifié (OGM) dans lequel on a incorporé le gène Cry1A(B) qui code pour une protéine pro-toxique, à été commercialisé en Europe et en Amérique du Nord dès 1997 [114].

Il y a plusieurs façons d'améliorer l'efficacité des biopesticides. On peut trouver des souches plus virulentes. On peut aussi travailler sur des formulations prolongeant la rémanence au champ ou incorporant des produits synergistes qui, étant eux-mêmes non toxiques aux doses utilisées, augmentent de beaucoup l'effet toxique du biopesticide [133]. Enfin, les plantes transgéniques offriraient une protection continue ou modulée selon les systèmes d'expression génétique utilisés contre les insectes [114].

Le biopesticide qui a connu le plus grand succès commercial, le *Bacillus thuringiensis* Berliner 1915, occupe actuellement environ 1,5 % du marché mondial des insecticides [134]. Le Bt n'est pas une panacée, n'est efficace que contre quelques espèces, il manque de stabilité au champ. Agissant par ingestion, il n'est utile qu'une fois que les ravageurs ont commencé à s'alimenter. De plus, on a observé, chez plusieurs espèces d'insectes, le développement de populations résistantes au Bt [135, 136,137].

2.3.1. Le marché des biopesticides

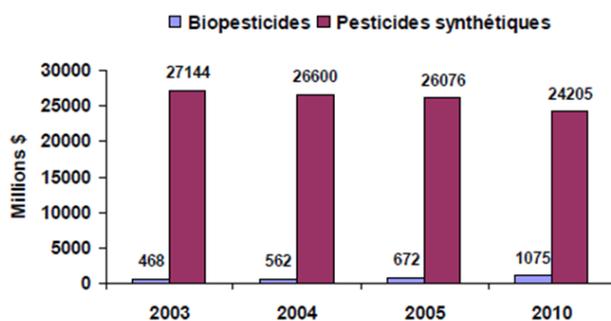


Figure 2.3. : Marché mondial des biopesticides et pesticides synthétiques.

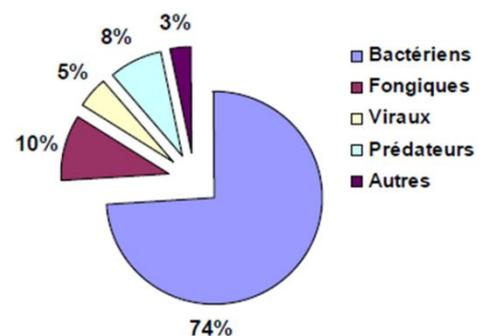


Figure 2.4. Le marché mondial des biopesticides microbiens en 2005 [138].

Le marché des pesticides synthétiques avait diminué au cours des 5 dernières années grâce au développement des biopesticides et des récoltes

génétiqnement modifiées. Les biopesticides représentent 2.5% (672 millions \$ en 2005) des ventes de produits phytosanitaires (26 milliards \$) (Figure I.1), alors qu'il était seulement de 0.2% en 2000. En dépit de sa petite taille comparée aux pesticides synthétiques, le marché des biopesticides se développe donc et on prédit qu'il atteindra plus d'un milliard de dollars en 2010 [138]. Actuellement, l'Amérique du nord et l'Europe consomment environ 40% et 20% respectivement de la production mondiale de biopesticides. On s'attend à ce que le marché des biopesticides aux USA monte de 205 millions à 300 millions U\$, et le marché européen d'environ 135 millions jusqu'à 270 millions \$ vers la fin de la décennie. Parmi les biopesticides microbiens, les produits à base de bactéries représentent 74% du marché mondial (Figure 2.3 et 2.4).

2.3.1.1. Biopesticides microbiens

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (IPM) [138,139].

Par exemple, l'intégration du contrôle biologique avec des fongicides, les pratiques culturales, et d'autres mesures peuvent contribuer au contrôle de la rouille sur la tomate [140]. Les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique, mais peuvent aussi être utilisés dans des situations pour lesquelles aucune solution de contrôle utilisant des produits de synthèse n'est actuellement disponible. Ces agents microbiens sont utilisés à travers le monde dans les champs et sous serres, pour combattre un grand nombre de maladies

causées par des pathogènes du sol, foliaires ou de post-récoltes ([141, 142, 143,144] Tableau 2.3.).

Plus de vingt-cinq produits microbiens (13 bactéries et 12 champignons) sont actuellement inscrits [139], et parmi eux, 36% ont été enregistrés dans les cinq dernières années. *Bacillus thuringiensis* ou Bt est considérée comme la bactérie la plus importante et la plus largement répandue, elle domine le marché des biopesticides microbiens (70%) [138]. Ces souches produisent un mélange de différentes protéines (δ -endotoxines), et tuent spécifiquement une ou quelques espèces de larves d'insectes. Ces produits ont été développés pour contrôler de multiples maladies sur diverses céréales, légumes, fruits et fleurs [139,145].

Tableau 2.3. Variation des agents de biocontrôle des bioagresseurs [141].

Agent de biocontrôle	Année d'enregistrement	organisme ou maladie ciblée	Cultures concernées
<i>Agrobacterium radiobacter</i> strain K84	1979	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Plantes ornementales, fruits, noix
<i>Agrobacterium radiobacter</i> Strain K1026	1999	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> and <i>A. rhizogenes</i>	Plantes ornementales, fruits, noix
<i>Ampelomyces quisqualis</i> isolate M-10	1994	Powdery mildew	Fruits, légumes et plantes ornementales
<i>Aspergillus flavus</i> strain AF36	2003	<i>Aspergillus flavus</i>	Coton
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 21,882	2004	<i>Aspergillus flavus</i>	Cacahuète
<i>Bacillus licheniformis</i> Strain SB3086	2003	Les pathogènes et rouilles foliaires	plantes ornementales et gazon ornemental
<i>Bacillus pumilus</i> Strain GB 34	2002	<i>Rhizoctonia, Fusarium</i>	Soja
<i>Bacillus subtilis</i> GBO3	1992	<i>Rhizoctonia, Fusarium Aspergillus</i> et d'autres	Coton, arachides, soja, blé, orge, pois et haricots
<i>Bacillus subtilis</i> MBI 600	1994	<i>Rhizoctonia, Fusarium, Alternaria</i> et <i>Aspergillus</i>	Coton, haricot, orge, blé, corn, pois, arachides et soja
<i>Bacillus subtilis</i> Strain QST 713	2000	Pathogènes, pourriture et rouilles foliaires	Cerises, courges, raisins, légumes foliaires, poivres, pommes de terre, tomates et noix
<i>Bacillus subtilis</i> var. <i>amylolique-faciens</i> strain FZB24	2000	<i>Rhizoctonia</i> et <i>Fusarium</i>	arbres d'ombre et des forêts, plantes ornementales et arbustes
<i>Candida oleophila</i> isolate I-182		Maladies après la récolte	Divers fruits, légumes, fleurs, plantes ornementales et d'autres
<i>Coniothyrium minitans</i> CON/M/91-08	2001	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> et <i>Sclerotinia minor</i>	Sol agricole
<i>Gliocadium catenulaum</i> strains J1446	1998	Pathogènes du sol	Légumes, herbes, épices, gazon, arbres et arbustes
<i>Gliocadium virens</i> GL-21	1990	Pathogènes du sol	Plantes ornementales, légumes, coton
Killed <i>Myrothecium verrucaria</i> : fermentation solids and solubles	1996	Nématodes parasite de la plante	Plantes alimentaires, plantes à fibres et plantes ornementales
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> strain 63-28	2001	<i>Pythium, Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum</i>	Légumes et plantes ornementales en serre

2.3.1.2. Les biocides inertes

En raison de la conjoncture actuelle, les biopesticides d'origine botanique sont appelés à un avenir meilleur, car la demande en produits phytosanitaires sans danger, de faible rémanence et qualifiés de produits verts est actuellement en hausse. Actuellement, on rapporte que 2121 espèces de plantes possèdent des propriétés de lutte antiparasitaire ; un total de 1005 espèces identifiées, présentent des propriétés insecticides, 384 avec des propriétés anti-appétissantes, 297 possédant des propriétés répulsives, 27 avec des propriétés attractives et 31 avec des propriétés de stimulateurs de croissance [5].

Les composés secondaires des plantes sont réputés depuis l'antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques et depuis quelques décades, l'homme s'intéresse également à leurs autres activités biologiques. En particulier, ces composés secondaires sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Les molécules du métabolisme secondaire des plantes appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes. Ces composés sont très nombreux et variés, et certains sont largement distribués, comme les alcaloïdes, les terpènes et les tanins, tandis que d'autres ont une répartition plus restreinte comme les composés soufrés [146].

D'autres substances secondaires des plantes, les phytoecdystéroïdes représentent une classe particulière. On en connaît actuellement plus de 200 représentants différents. Ce sont des analogues des hormones de mue des insectes et ils peuvent participer à la défense de plantes contre les invertébrés et arthropodes phytophages. L'effet toxique du 20-hydroxyecdysone sur les espèces d'insectes est observé à 2-25 ppm. Parmi les 3000 espèces végétales étudiées, 5 à 6 % contiennent des ecdystéroïdes en quantités significatives ce qui signifie plus de 50 ng/g de poids sec. L'activité biologique des phytoecdystéroïdes a été testée sur une grande variété d'insectes. Des études ont également démontré que

phytoecdysteroïdes ont un effet sur la croissance et la reproduction des insectes [147].

Les substances soufrées des végétaux montrent de multiples activités pesticides qui peuvent les destiner à de nombreuses applications phytosanitaires. Les effets toxiques des *Allium* spp. et de leurs composés soufrés sont connus depuis longtemps chez les bactéries pathogènes à l'homme mais aussi sur les végétaux. Ainsi, les extraits d'*Allium* ont une action sur de nombreux insectes, nématodes, bactéries et champignons. Plusieurs bactéries sont sensibles à divers *Allium* spp. et leurs extraits. En effet, *Erwinia carotovora* (Jones, 1901) Waldee, 1945) et *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend 1907) Conn 1942 sont sensibles à *Allium tricoccum* (Blanco), *Allium cernurum* (Roth) et *Allium sativum*.L Par ailleurs, *Allium sativum* agit sur plusieurs espèces de *Pseudomonas* spp. et de *Xanthomonas* spp. [148, 149, 150,151].

2.3.1.3. Mode d'action des biocides inertes

2.3.1.3.1. Mode d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles de nombreuses plantes sont devenues populaires ces dernières années et leurs principes bioactifs ont conquis récemment plusieurs secteurs industriels [152, 153, 154, 155, 156, 157,158, 159, 160]. Le genre *Thymus* regroupe un grand nombre d'espèces, sous-espèces et variétés de plantes sauvages. Plusieurs de ces espèces sont caractéristiques de l'aire méditerranéenne. Elles sont utilisées à l'état frais ou sec comme plantes culinaires. Leurs huiles essentielles sont largement utilisées dans la médecine alternative grâce à leurs propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antimicrobiennes [161, 162].

Les mécanismes d'action des propriétés pesticides des huiles essentielles sont méconnus et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet [148]. On considère que ces mécanismes sont uniques et que les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de

gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs. Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger la durée de vie de ces derniers [163,164].

Les mécanismes d'action des huiles essentielles seront présentés en donnant des exemples tirés de la littérature et des essais effectués avec le produit FACIN, un insecticide/acaricide à base de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. 1753 [163]. Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages [164]. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes [163].

Les biopesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt. Plusieurs sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes ou ordres d'insectes [165].

En étant très peu rémanents, ils peuvent être appliqués jusqu'au moment de la récolte; cette faible rémanence permet également aux travailleurs de retourner au champ ou dans une serre dans un court délai après le traitement. Les formulations sont stables à la température de la pièce et les huiles essentielles brutes peuvent être entreposées pendant plusieurs années [151,164].

Les méthodes d'analyse de ces extraits ont beaucoup évolué depuis 10 ans et il est maintenant possible d'isoler et d'identifier des composés auparavant inconnus; ceci permet le développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique. De plus, Un biopesticide peut être

mis sur le marché dans un délai plus court qu'un produit de synthèse, car le processus d'homologation est moins exigeant [163].

En plus des particularités mentionnées ci-dessus, les biopesticides à base d'huiles essentielles forment une classe de pesticides intéressante puisqu'en étant constituées de plusieurs composés à mécanismes d'action multiples, elles ont des modes d'application variés. Les extraits de plantes sollicitent simultanément plusieurs mécanismes physiologiques (par opposition à des pesticides n'ayant qu'une seule cible moléculaire), ce qui peut retarder l'apparition de populations résistantes d'insectes. Ainsi, des populations du puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* (Sulz.), traitées avec des extraits purifiés de neem ont développé 9 fois leur niveau initial de résistance en 40 générations, alors que des populations traitées avec des mélanges bruts n'avaient pas développé de résistance [165].

-Toxicité par fumigation

L'ajout d'échantillons de plantes vertes dans les caveaux de riz et de grains est une pratique courante des peuples africains pour chasser les insectes et les rongeurs des denrées stockées [166]. La fumigation au moyen des huiles essentielles a été étudiée avec le charançon du riz *Sitophilus oryzae* (L.), des coléoptères des grains dont le bruchidae, *Callosobruchus chinensis* (L.).

Les résultats démontrent que les effets toxiques dépendent de l'espèce d'insecte, de la plante et du temps d'exposition à l'huile essentielle [167]. À un taux de diffusion de 3,5 mg/cm², l'activité insecticide a été déterminée pour les extraits de l'écorce de l'huile de cannelle (*Cinnamomum cassia* Nees ex Blume), du raifort (*Cochleria aroracia* L) et de l'huile de moutarde (*Brassica juncea* L) [152]. Les huiles d'origan, de basilic, de marjolaine, de thym, de sauge, de laurier, de romarin, de lavande, d'anis, de menthe, de céleri, de cumin, d'agrumes, de coriandre et de fenouil ont été testées et plusieurs ont causé jusqu'à 100 % de mortalité chez le petit perceur des céréales, *Rhysopertha dominica* (F.), le cucujide dentelé des grains, *Oryzaephilus surinamensis* (L.), le tribolium rouge de

la farine, *Tribolium castaneum* (Hbst.) et le charançon du riz à un taux de diffusion de 10 à 15µL/L d'air [168].

Vingt-deux composés, dont surtout l'alpha-terpinéol (CL50 de 4,05 µL/L) se sont avérés toxiques pour *Callosobruchus maculatus* (F.), *Sitophilus zeamais* Motsch, et *Dermestes maculatus* DeG. Sur une sélection de 30 composés extraits d'agrumes [169]. REGNAULT-ROGER et HAMRAOUI [170], ont observé un effet toxique de monoterpènes (le linalool étant le plus toxique et l'estragole l'étant le moins) par fumigation avec la bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus* (Say). Le matériel végétal broyé et l'huile essentielle d'une variété africaine de *Chenopodium ambrosioides* ont réduit de 80 à 100 % les densités des insectes de denrées stockées 24 h après l'application d'une dose de 0,2 µL/cm² [171].

- Effet répulsif

Lors de tests de choix (*two-choice tests*), 13 huiles essentielles ont été testées avec la bruche du haricot [172] et 9 huiles avec la blatte américaine, *Periplaneta americana* (L.) [173]. Dans la majorité des cas, les insectes se sont dirigés vers le témoin non traité. Ces études ont également démontré que l'effet répulsif était étroitement lié à la structure de la molécule testée. Lors des tests d'absence de choix (*no choice tests*), la présence d'huiles essentielles a eu un effet inhibiteur sur la ponte, causant une rétention des œufs, et sur l'émergence des adultes. Les huiles d'origan (*Origanum vulgare* L), de menthe (*Mentha microphylla* C. Kock) et d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill., 1800) ont été les plus toxiques [172].

Le FACIN a démontré des propriétés répulsives avec le tétranyque à deux points *Tetranychus urticae* (Koch) et l'aleurode des serres *Trialeurodes vaporariorum* (Westw.) (Akalach, données non publiées). À une concentration de (0,5 %) l'effet répulsif du FACIN était 80 % plus élevé que celui du témoin acétone pour le tétranyque. Lors d'un test de choix, les femelles ont pondu 74 % moins d'œufs sur les feuilles de fèves traitées que sur les feuilles témoins. La ponte des

aleurodes femelles fut 4 fois plus élevée sur les feuilles témoins non traitées que sur les feuilles traitées avec le FACIN (0,5 %) [163].

- *Toxicité par contact*

La toxicité par contact des huiles essentielles peut être très élevée avec des LC₅₀ de 9 µg/cm² (ex. le FACIN avec le tétranyque à deux points [174].

Ces produits ont donc leur place comme outils de phytoprotection en milieu agricole soit en serres ou en plein champ, par application topique [174, 175, 176, 177, 178] ou au sol [179].

- *Effets physiologiques*

Les huiles essentielles ont des effets antiappétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. REGNAULT-ROGER et HAMRAOUI [170], ont observé l'effet du linalool, du thymol et du carvacrol sur la fécondité et le nombre d'œufs pondus de la bruche du haricot. Il y a eu également inhibition complète de la pénétration des larves dans les grains traités de linalool et de thymol. De plus, ce dernier produit s'est avéré inhibiteur de l'émergence des adultes.

KARR et COATS [180], ont démontré que l'application des d-limonène, linalool, β-myrcène et α-terpinéol à un effet sur la croissance et le développement de la blatte germanique, *Blattella germanica* (L.). Ces monoterpènes ont influencé significativement le temps requis par les nymphes pour atteindre le stade adulte. L'application de doses élevées de d-limonène et de linalool a diminué l'émergence des nymphes quoique la mortalité des femelles n'a pas été affectée.

ROEDER [181], a réalisé une revue de littérature exhaustive sur l'octopamine, un neurotransmetteur spécifique au système nerveux des invertébrés. L'octopamine a un effet régulateur sur les battements de cœur, la

motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. ENAN [182], a fait le lien entre l'application de l'eugénol, de l' α -terpinéol et de l'alcool cinnamique, et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Il conclut que l'effet peut varier d'un terpène à l'autre et que les huiles essentielles peuvent agir en tant qu'agonistes ou antagonistes du neurotransmetteur.

- *Effets physiques*

Les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou. ISMAN [177], émet cette hypothèse car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes à corps mou. C'est le cas du FACIN qui exerce une répression satisfaisante sur les thrips, les pucerons, les aleurodes et certains acariens et qui s'est avéré moins efficace avec des insectes à carapace dure tels que des coléoptères et hyménoptères adultes et certains acariens prédateurs. Entre autres, le FACIN est peu toxique pour le parasitoïde adulte, *Aphidius colemanii* (Viereck) et pour les acariens prédateurs, *Amblyseius fallacis* (Garman) et *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Tableau 2.4) [182].

Tableau 2.4. Effet du FACIN et autres produits sur quelques agents biologiques utilisés en serres.

Agent biologique		Mortalité (%)	
		après 24 h	après 48 h
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Facin 0,5 % m.a.	28,7	58,6
	Abamectin	54,0	83,6
	Savon insecticide + poudre de pyrèthre	98,9	99,7
<i>Amblyseius fallacis</i>	Facin 0,5 % m.a.	19,3	23,1
	Abamectin	78,0	81,0
	Savon insecticide + poudre de pyrèthre	85,1	85
<i>Aphidius colemanii</i>	Facin 0,5 % m.a.	22,3	40,4
	Abamectin	67,5	90,1
	Savon insecticide + poudre de pyrèthre	99,5	99,5

Il reste à déterminer le mécanisme par lequel les huiles essentielles dégradent l'enveloppe externe de certains insectes et acariens. Le rôle de la cuticule est de prévenir les pertes hydriques. Elle est sécrétée par l'épiderme et comporte plusieurs couches dont la couche externe, composée de cires donnant les propriétés hydrofuges à la cuticule. Les molécules de cette couche cireuse présentent une rangée de groupes aliphatiques vers l'extérieur créant ainsi une couche hydrofuge et imperméable [183].

La nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduits de cette couche cireuse et sont affectés par l'huile essentielle ce qui peut entraîner l'asphyxie. Il reste à déterminer précisément le site de dégradation de l'enveloppe externe de l'insecte et de l'acarien et le type de dommage causé par l'application des huiles essentielles, par application topique ou par fumigation. Des travaux en microscopie électronique et confocale seraient à privilégier. Cette dernière technique serait particulièrement intéressante, car elle permet d'observer l'effet du produit sur des cibles vivantes [177].

2.3.1.3.2. Mode d'action des crucifères et de leurs métabolites

Parmi les plantes pouvant être utilisées en biodésinfection, les Brassicacées ont été abondamment étudiées, et depuis de nombreuses années. Les Brassicacées, et principalement les espèces de *Brassica*, contiennent naturellement dans leurs tissus des quantités importantes de glucosinolates (GSL), dérivés d'acides aminés [184].

Ces composés ne sont pas intrinsèquement biocides. Cependant, lorsqu'ils sont hydrolysés par la myrosinase (thioglucoside glucohydrolase, EC 3.2.3.1), une enzyme présente de façon endogène dans les tissus de *Brassica spp.*, les GSL libèrent une gamme de produits, dont des thiocyanates et différentes formes d'isothiocyanates volatiles (ITC) [185].

Ces produits d'hydrolyse, et en particulier les ITC, sont connus pour leurs propriétés biocides et/ou biostatiques. Les GSL et la myrosinase sont situés dans des compartiments différents de la cellule ; la vacuole pour les GSL, liée à la paroi cellulaire pour la myrosinase. Quand les tissus sont broyés, ou lors de stress, les GSL et la myrosinase peuvent entrer en contact, et l'hydrolyse a lieu. C'est ce qui se passe lors de l'incorporation de résidus broyés dans le sol [186].

Selon le GSL précurseur et les conditions d'hydrolyse, les produits formés sont différents. La nature, la localisation et les concentrations des GSL dans les tissus de différentes espèces de *Brassica* ont été abondamment étudiées [187].

Les GSL dominants, leur abondance relative et les produits de leur hydrolyse sont assez stables et prévisibles pour une espèce de *Brassica*, voire une variété donnée. Selon le GSL précurseur, les ITC produits sont différents. Ainsi, la moutarde brune (*Brassica juncea* (L.) Czern.) contient principalement de la sinigrine ; la moutarde blanche (*Sinapis alba* L., 1753), de la glucotrophaeline et de la sinalgine. Cette diversité des plantes utilisables permet une adaptation aux conditions particulières de chaque production (climat, période de l'année, type de sol, etc.) [185].

Les cultures utilisées comme engrais vert doivent pousser de façon vigoureuse sur une période de temps courte, produire une grande biomasse végétative et être rapidement incorporées et décomposées en présence d'eau en quantité suffisante, avant la mise en place de la culture suivante. Il existe actuellement des variétés de Brassicacées sélectionnées spécialement pour leur production de biomasse et leurs propriétés de biodésinfection [186].

L'efficacité des espèces de *Brassica* en biodésinfection dépend de nombreux facteurs, en plus du potentiel purement "chimique" des composés produits. La période d'incorporation ou d'exsudation des tissus contenant les GSL doit coïncider avec un stade sensible de l'organisme ciblé et l'effet suppressif doit persister pour protéger la plante pendant un laps de temps suffisant pour

permettre une production de qualité. De plus, l'efficacité de la biodésinfection est influencée par l'efficacité de l'incorporation, l'activité de la myrosinase et les pertes dues à la volatilisation, à la sorption sur les argiles et la matière organique, au lessivage et à la dégradation microbienne [188].

Les propriétés biocides des produits d'hydrolyse ont été démontrées sur des insectes, des nématodes, des champignons et des bactéries [188]. Les études sont en général menées d'abord *in vitro*. Dans des essais avec des ITC purs issus de synthèse chimique, utilisés sous forme volatile ou dilués dans un milieu gélosé, *G. graminis* var. *tritici* et *R. solani* se sont révélés les plus sensibles, alors que *Pythium irregulare* et *Bipolaris sorokiniana* étaient les moins sensibles, *Fusarium graminearum* ayant une sensibilité intermédiaire [189].

Des résultats similaires ont été obtenus avec des tissus congelés puis broyés de *B. napus* (L) et *B. juncea* (L) [190]. L'efficacité de la farine de graines de *B. napus* (L) a aussi été vérifiée sur *Aphanomyces. euteiches* f. sp. *pisi* [191]. Concernant les nématodes, la toxicité plus ou moins forte de sept ITC a été montrée sur *Tylenchus semipenetrans* (Cobb) et *Meloidogyne javanica* [192]. Ce résultat a été confirmé avec l'utilisation de tissus de *B. hirta* (L) frais, efficaces sur ces mêmes nématodes [193]. Ces résultats prometteurs *in vitro*, ont permis d'envisager des applications en conditions réelles, principalement avec des espèces de *Brassica*.

Des résidus de racines de *B. napus* et *B. juncea* ont permis de réduire l'incidence du piétin verse sur blé, la réduction étant proportionnelle au niveau de GSL dans les racines [187]. Cependant, dans une autre étude portant sur le même pathosystème, la comparaison entre une monoculture de blé et des rotations blé-culture de coupure n'a pas confirmé ces résultats. L'effet bénéfique sur la culture de blé vient essentiellement de l'effet plante de coupure, Brassicacée ou non. Le canola (= colza sélectionné au Canada) ou la moutarde n'apportent pas d'effet significatif de biodésinfection supplémentaire, même avec des plantes à fortes teneurs en glucosinolates [194].

La biodésinfection n'est pas uniquement utilisée en grandes cultures ou cultures annuelles, mais également sur cultures pérennes. Dans une étude en conditions contrôlées, l'amendement de sol de verger avec de la farine de graines de colza a permis d'améliorer la croissance de plants de pommier et de diminuer significativement l'infection des racines par *R. solani* et *Pratylenchus penetrans* [195].

Cependant, il semble que le contrôle de *Rhizoctonia. solani* ne soit pas uniquement dû à l'action biocide directe des produits d'hydrolyse des GSL, mais aussi à d'autres facteurs, tels que des modifications de la structure des communautés microbiennes du sol. Ces modifications peuvent cependant être une conséquence de cette action biocide sur d'autres microorganismes. Ces amendements n'ont par contre pas permis de limiter les populations de *Pythium* spp. dans le sol, ni l'infection des plants par cet agent pathogène [195].

Des résultats prometteurs ont aussi été obtenus sur fraisier. L'utilisation d'engrais verts sélectionnés (*Brassica. juncea* et *Eruca sativa* (Mill) = roquette) a permis d'augmenter le rendement en fruits, par rapport à un engrais vert habituel (avoine) ou un sol sans traitement. Par contre, les résultats restent supérieurs avec une fumigation au bromure de méthyle [149].

L'amendement du sol avec des résidus de brocoli permet de diminuer la population de microsclérotés de *Verticillium dahliae* (Kleb) dans le sol, d'améliorer la croissance des choux-fleurs en culture suivante et de diminuer les symptômes de décoloration vasculaire dans les sols fortement infestés [196, 148]. Ce même type de résidus donne de bons résultats pour réduire les dégâts dûs à *Sclerotinia. Sclerotiorum* (Lib) et *Sarracenia. Minor* (Walt) sur culture de laitue.

Les amendements en Brassicacées peuvent se faire par incorporation des résidus de culture, mais pas uniquement. Les glucosinolates et la myrosinase sont présents dans les semences de ces plantes. Celles-ci peuvent donc aussi être utilisées comme amendements, une fois réduites en farine [195].

LAZZERI *et al.* [197] ont montré que dans certaines conditions de séchage, les tissus de Brassicacées gardent une teneur résiduelle en GSL et une activité myrosinase suffisantes pour produire, après addition d'eau, les produits d'hydrolyse biocides. Cette efficacité a été vérifiée *in vitro* sur *Pythium. irregulare* et *Rhizoctonia. solani*. Il serait ainsi envisageable de produire des "granulés de biodésinfection", pour utiliser le potentiel des Brassicacées sans avoir à cultiver les plantes *in situ*.

De façon similaire, il a été démontré que certaines plantes de la famille des Alliées génèrent des composés soufrés pouvant avoir des effets biocides. Comme pour les Brassicacées, les produits actifs découlent du catabolisme de précurseurs végétaux par des enzymes, activées lors de la décomposition des tissus [198]. Les thiosulfates sont dégradés en disulfides et trisulfides, qui sont des composés aussi toxiques que le bromure de méthyle [150]. Ces molécules ont des propriétés bactéricides [199], fongicides [200,151] et insecticides [201].

Ainsi, *in vitro*, des extraits de *Tulbaghia violacea* (Harv), de la famille des Alliées, ont une activité antifongique contre *Botrytis cinerea*, *Pythium. ultimum* et *R. solani* [202].

2.3.1.3. Les perspectives d'avenir de la lutte sémi chimique

La prise de conscience du danger que représente l'utilisation à outrance des pesticides pour la santé humaine et l'environnement a modifié la pratique de l'agriculture moderne. Mises de côté et remplacées par les pesticides chimiques dans les années 50, les molécules alléochimiques (végétales et animales) sont aujourd'hui au cœur d'un programme de développement de stratégies alternatives pour la protection intégrée des cultures. En effet, le programme de développement de la lutte intégrée en France a relancé, de façon soutenue, les recherches dans ce domaine dès les années 1990 [1].

Bien qu'une grande partie des plantes sources utilisées pour leurs substances insecticides soit d'origine tropicale (ce qui peut engendrer des problèmes d'approvisionnement), la flore des climats tempérés contient également un grand nombre de molécules allélochimiques de défense ; C'est le cas des plantes aromatiques méditerranéennes [152].

Il existe une large variété de molécules allélochimiques qui pourraient être utilisées pour fabriquer de nouveaux produits phytosanitaires. Il est donc nécessaire de diversifier les molécules allélochimiques et de stabiliser les formules existantes afin de limiter leur biodégradabilité [203].

Les progrès accomplis ces dernières années, aussi bien dans la mise au point des formulations et de leur stabilisation chimique que dans la compréhension des relations interspécifiques, ont permis l'arrivée sur le marché de molécules de synthèse sans danger pour l'environnement, efficaces et à prix raisonnable [204].

La résistance à long terme des ravageurs à ces substances sémiocchimiques n'a pas été démontrée. Il existe un risque, mais qui est bien moindre que dans le cas des composés chimiques [205, 206].

2.3.1.3.1. Avantages des biopesticides

Plusieurs raisons justifient le choix des biopesticides: ils restreignent ou éliminent l'utilisation des pesticides chimiques, sont moins toxiques que les molécules synthétiques, diminuent les risques de développer de la résistance, ont une plus grande spécificité d'action. Par ailleurs, ils améliorent la qualité de vie des travailleurs agricoles, n'exigent pas de délai requis avant récolte, offrent aux consommateurs des produits sains qui ont une meilleure presse auprès des consommateurs. Ils se dégradent rapidement diminuant ainsi le risque de pollution. De plus l'utilisation des biopesticides offre la possibilité de produire des produits bios respectant les normes de Limite Maximale de Résidu (LMR) requises aux produits agricoles exportés [138].

2.3.1.3. 2. Désavantages

Malgré les avantages de ces agents biologiques, le marché des biopesticides reste toujours limité à cause de certaines contraintes :

Premièrement, l'effet protecteur est parfois insuffisant par rapport aux produits chimiques [207] ou n'est parfois pas constant, dépendant notamment des conditions du milieu (la température, sol, humidité, la plante hôte, pH, etc...) [208, 209].

Deuxièmement, le coût et le délai sont très élevés pour l'enregistrement en Europe, de même que le coût de la production est élevé pour la plupart des agents de biocontrôle [208].

Troisièmement, le conditionnement et la formulation sont très difficiles pour des espèces non sporulantes et même parfois pour les espèces sporulantes [210,211].

D'autre part, les pesticides chimiques peuvent offrir rapidement une activité beaucoup plus efficace, tandis que les biopesticides peuvent avoir besoin de temps après leur application pour commencer à agir.

Il est important de se rappeler que la plupart des biopesticides sont composés d'organismes vivants qui ont un spectre relativement restreint de ravageurs cibles

CHAPITRE 3

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les plantes sont attaquées, non seulement par divers types de micro-organismes pathogènes, mais aussi par d'autres ennemis, parmi lesquels des mollusques, des nématodes, des acariens et des insectes [212].

Avec l'apparition des pesticides de synthèse, certains ont imaginé que les ennemis des cultures seraient battus en brèche et éliminés [116]. De toute évidence, cela ne s'est pas produit.

L'utilisation abusive de ces pesticides a causé de nombreux problèmes à l'environnement et aux écosystèmes touchant particulièrement : la résistance des ravageurs aux pesticides, la contamination de l'eau ainsi que la perte de la biodiversité.

Cependant, depuis une trentaine d'années, chimistes, physiologistes, biochimistes, toxicologues et spécialistes de la protection des végétaux unissent leurs efforts dans la recherche de nouvelles molécules d'origine végétale susceptibles de permettre à l'humanité de lutter efficacement contre les déprédateurs, avec un minimum de problèmes pour l'environnement. (Biopesticides d'origine végétale). Ainsi, plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides et méritant d'être valorisés en tant que produits phytosanitaires ont été déjà répertoriées et par suite, la voie vers la découverte de nouvelles plantes et par la même de nouvelles molécules à effet bactéricide, nématicide, insecticide ou fongicide reste ouverte [213].

Objectifs

Ce présent travail a pour objectifs d'évaluer l'efficacité de deux formulations de biopesticides d'origine végétale par :

- L'étude *in vivo* de leur pouvoir insecticide sur un ravageur redoutable de la tomate *Tuta absoluta* dite mineuse de la tomate.

- L'étude *in vitro* de leur pouvoir antifongique sur quatre souches phytopathogènes *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani*

3.1. Conditions expérimentales

3.1.1. Préparation du matériel végétal

Notre essai a commencé par la réalisation d'un semis de tomate effectué au niveau de la serre du laboratoire de recherche de phytotechnie de l'université des sciences agronomiques de Blida.

Pour cela, nous avons utilisé la variété Marmande en raison de sa disponibilité au niveau de la station expérimentale du département d'Agronomie. Cette variété fixe est aussi connue pour sa précocité et sa vigueur.

Le semis a été effectué à la fin du mois de janvier dans des alvéoles en plastique remplies de tourbe à raison de 2 à 3 graines par alvéole (Fig. 3.1_a et _b).

Au stade 3 feuilles (Fig.3.2.), les plants de tomate ont été repiqués dans des gobelets remplis d'un mélange de tourbe ,de sable et de terre préalablement stérilisé dans une étuve pendant 24 h à une température de 180°C (Fig.3.3.)



Semis : Tomate
Variété : MARMANDE
Le 29.01.2010



Figure. 3.1. Obtention du matériel végétal

(a : période de semis, b : stade de levée du semis)



Figure 3.2. Plants de tomate au stade 3
feuilles



Figure 3.3. Plants de tomate après
repiquage

Les plants ont été régulièrement irrigués (tous les 2 à 3 jours) à l'eau du robinet, mais parfois un apport de solution nutritive standard a été préconisé dans le but d'accélérer et d'assurer le bon développement des plants.

Après la reprise des plants repiqués, ces derniers ont été déplacés dans une chambre de culture sous ambiance contrôlée ; située au niveau du laboratoire de zoologie Cette dernière nous a servi également de chambre d infestations.

3.1.2. Préparation du matériel animal

Le materiel animal provenant essentiellement de feuilles de tomate minées par le ravageur *Tuta absoluta* a été récupéré de chez un exploitant maraicher privé du côté de Tipaza.

Au niveau de la chambre de culture, nous avons procédé à l'infestation par la mise en place de ces feuilles minées sur les plants de tomate sains déjà disposés sur les étagères (Fig 3.4.).

Afin d'assurer une bonne infestation, les modules ont été entièrement recouverts par une bache à plat jouant le rôle d'une barrière physique dans le but de contenir l'infestation. Des ouvertures sont alors préconisées pour le suivi régulier de la culture et de l'évolution de l'infestation (Fig 3.5.).

Au bout d'une semaine, les signes de la mineuse ont commencé à être visibles.

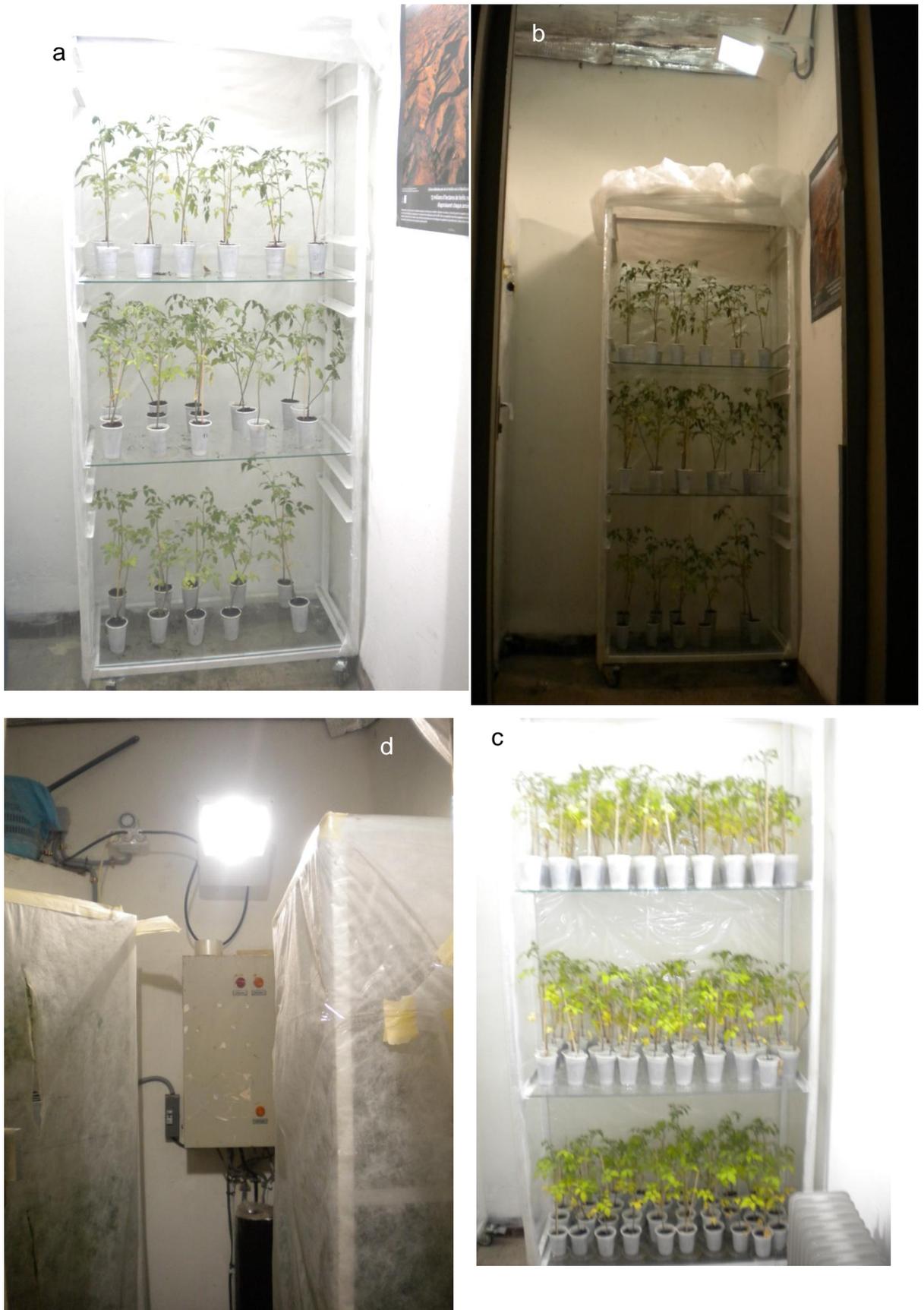


Figure 3.4. Présentation de la chambre de culture

(a : Aspect général des modules, b : emplacement des plantules, c : disposition du matériel végétal avant infestation, d : source lumineuse par des lampes a sodium)



Figure 3.5. Conduite de l'infestation des plants de tomate

(a : infestation des plants sains par des feuilles minées ; b : couverture des modules par une bâche à plat ; c : réalisation d'ouvertures sur la couverture pour l'entretien ; d : récupération des plants infestés pour les essais

3.1.3. Présentation des biopesticides

Les biopesticides utilisés dans notre expérimentation sont d'origine végétale (Fig. 3.6.)



Figure 3.6. Présentation des biopesticides utilisés

Le Premier étant une poudre constituée d'un mélange de graines de différentes espèces de crucifères à différentes proportions. Cette poudre de crucifères agit par des principes actifs volatiles ayant un effet immédiat sur les bioagresseurs.

Le second est une huile essentielle à base de thym formulée à la silice dont le largage du principe actif se réalise durant de 96 h.

Ces extraits nous ont été gracieusement fournis par l'IUT Auch de l'université de Toulouse.

3.1.4. Présentation de la chambre de culture

C'est une chambre en dur équipée de deux lampes à sodium avec une lumière blanche de 300 watt chacune, reliées à une minuterie assurant une photopériode de 13h (de 9h à 22h). Le plafond est recouvert d'une couche d'aluminium pour une réflexion maximale de la lumière (Fig. 3.7).

On y trouve également un chauffage électrique (bain d'huile) muni d'un thermostat pour maintenir une température ambiante comprise entre 25 et 30 °c ainsi qu'un thermo-hygromètre nous permettant de vérifier quotidiennement la température et l'hygrométrie qui est comprise entre 60 et 70%.

Aussi, 3 modules à structure métallique comprenant chacun 3 étagères en verre sont recouvertes de film plastique transparent et sont installés dans la chambre pour y déposer les plants de tomate repiqués.



Figure 3.7. Présentation générale de l'hortibox

3.2. Etude *in vivo* du pouvoir insecticide des biopesticides :

Le présent aspect d'étude a été réalisé dans un Hortibox ou chambre de culture. C'est une structure tubulaire de dimension 80x80x1,60 m spécialement conçue pour un rendement maximum sur 1 m² de surface (Fig.3.7.). L'intérieur est entièrement doublé en Mylar Diamond, pour une meilleure réflexion, 100 % hermétique à la lumière externe.

L'ampoule horticole (haute pression sodium). MH (métal halide) pour la croissance, d'une puissance de 400w. Elle ne produit que très peu de chaleur Le spectre lumineux de cette ampoule permet une croissance optimale avec un flux lumineux de 40 500 lumens. Un brumisateur ultrasonique à vapeur froide. Il programme l'humidité choisie, dispose d'une Bec diffuseur pivotant pour orienter le flux d'humidité avec un ventilateur intégré. Par ailleurs, il est muni d'un extracteur qui permet de ventiler correctement notre chambre de culture indoor et relié à un thermostat variateur qui permet de réduire la vitesse d'un inducteur ou d'un extracteur en fonction de la température choisie.

3.2.1. Evaluation du biopesticide à base de crucifères

Pour l'évaluation du pouvoir insecticide de la poudre de crucifères, nous avons commencé par la récupération de 12 gobelets de plants infestés de la chambre de culture qui ont été numérotés de 1 à12.

Ainsi, pour chaque plant, nous avons vérifié sous loupe binoculaire les infestations en prenant soin de marquer chaque feuille minée avec un feutre indélébile puis nous avons compté le nombre de larves existantes sur chacune d'elle (Fig. 3.8.).

A la fin du comptage, ces plants sont soigneusement mis dans un hortibox qui n'est autre qu'une petite enceinte conçue pour effectuer les différents traitements en présentant les mêmes conditions (T°, H% et photopériode) que la

chambre de culture afin d'éviter tout stress pour la plante et pour son bioagresseur en dehors des conditions de l'expérimentation.



Figure 3.8. Marquage des mines pleines sur feuillage

L'efficacité de la poudre de crucifères a été évaluée selon trois procédés a savoir :

Premier procédé : A l'aide d'une balance de précision, nous avons commencé par peser la dose complète qui a été limitée dans notre cas à 3g de poudre de crucifère (dose de traitement).

Le biopesticide à base de formulation de crucifère a été entièrement appliqué par saupoudrage sur les plants de tomate infestés. A l'aide d'un vaporisateur manuel, nous avons vaporisé de l'eau sur ces mêmes plants pour assurer une bonne adhésion de cette poudre avec les feuilles infestées et par la même, stimuler l'activation de la matière active contenue dans la poudre de crucifères (Fig.3.9.).

Une fois l'application du traitement terminée, l'hortibox a été de suite refermé afin de maintenir les émanations de gaz issues du biopesticide.

L'évolution des infestations a été suivie pour chaque plant traité en comptant sous loupe binoculaire le nombre de larves vivantes après 24h en comparaison avec l'état d'infestation initiale. Ce procédé a été répété 48h puis 72h après traitement.

Le deuxième procédé : Ce traitement consiste à appliquer une double dose soit 6g de poudre de crucifères selon le même protocole que le premier traitement c'est-à-dire un saupoudrage en une seule fois.

Le troisième procédé : A la différence du second traitement, celui-ci consiste à saupoudrer la double dose mais fractionnée en deux doses complètes soit de 3g de poudre de crucifères chacune. Leurs applications étant espacées l'une de l'autre de 24h.



Figure 3.9. Application du biopesticide à base de crucifères (saupoudrage puis pulvérisation).

3.2.2. Evaluation du biopesticide à base de thym

Le même protocole que celui du biopesticide à base de crucifères a été suivi pour évaluer l'efficacité du pouvoir insecticide de l'huile essentielle de thym

Contrairement à la poudre de crucifères qui est appliquée directement sur le végétal, l'évaluation de celle de l'huile essentielle à base de thym est appliquée quant à elle après sa dissolution dans de l'eau selon la procédure suivante :

Premier procédé : consiste à préparer la solution mère à raison de 3g de poudre de l'huile essentielle de thym dans 300ml d'eau (1%).

Le second procédé: consiste à prélever 150ml (50%) de la solution mère qu'on réajustera avec de l'eau (soit 150 ml d'eau) jusqu'à obtenir une solution équivalente à 300ml.

Le troisième procédé : de la même façon, celui-ci consiste à prélever 0,75ml (25 %) de la solution mère puis la réajuster à son tour avec de l'eau jusqu'à obtention d'une solution de 300ml (soit un mélange de 75ml de solution mère + 225ml d'eau).

Toutes les solutions à base de thym obtenues ont été appliquées par pulvérisation directe sur les plants infestés dont les feuilles minées ont été préalablement marquées et les larves vivantes comptées sous la loupe.

L'évolution des infestations a aussi été suivie à trois pas de temps à savoir; 24h, 48h et 72h après traitement, en comparaison toujours avec l'état de l'infestation initiale.

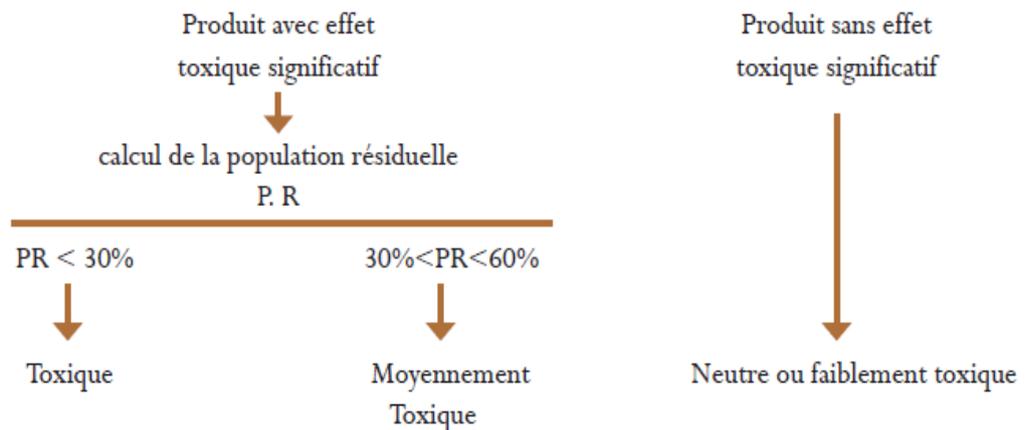
3.2.3. Evaluation d'un pesticide de synthèse

L'efficacité des biopesticides a été évaluée en comparaison à l'activité d'un produit phytosanitaire de synthèse. La molécule utilisée est la Thiaméthoxam 25%, c'est un insecticide systémique pour le contrôle des insectes piqueurs suceurs dans plusieurs cultures sous forme de granulés à disperser dans l'eau à une dose de 30g/hl. Le même protocole d'évaluation a été retenu.

Cependant, tous les aspects d'évaluation ont été comparés à chaque fois à un lot témoin contenant 12 plants infestés et pulvérisés à l'eau courante.

3.2.4. Estimation de l'activité insecticide des biopesticides et du produit phytosanitaire

L'évaluation de l'effet des biocides et du pesticide a été réalisée par le Calcul de la population résiduelle (P.R) selon le TEST de DUNNETT



$$PR = \frac{\text{Nb de formes mobiles (NFM) par traitement} \times 100}{\text{Nb de formes mobiles par témoin (eau)}}$$

P.R. <30% molécule toxique

30% < P.R <60% molécule moyennement toxique

P.R > 60% molécule neutre ou faiblement toxique

3.3. Etude *in vitro* du pouvoir antifongique des biopesticides

3.3.1. Présentation des souches fongiques

Les champignons, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* utilisés dans cette étude font partie de la collection des organismes phytopathogènes du laboratoire de phytopathologie du Département d'Agronomie. Ils ont été fournis gracieusement par le laboratoire de phytopathologie (Université d'Alicante, Espagne). Ces espèces fongiques ont été choisies pour leur pouvoir élevé à contaminer les cultures maraichères ainsi que pour leur pathogénicité chez les végétaux aussi bien en plein champ qu'en conditions de stockage.

3.3.2. Maintien (entretien) et purification des souches fongiques

Les souches fongiques sont entretenues par repiquage sur le milieu nutritif PDA (Potato Dextrose Agar) à pH=6,5-7 [214], favorable à leur croissance. Les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave (20 min à 115°C) et refroidis au bain Marie à 45°C puis coulés sous forme d'une couche plus ou moins épaisse en boîte de pétri de 9 cm de diamètre [215].

Pour s'assurer de la pureté des souches fongiques à ensemercer, ces dernières ont été préalablement purifiées. Leur culture et croissance se fait à l'incubateur à une température de 27°C à l'obscurité. La période de croissance varie de 3 à 7 jours au maximum pour les quatre champignons.

L'activité antifongique vis-à-vis des quatresouches de champignons cités précédemment a été déterminée par le test d'activité volatile ou «volatile activity» [216, 217, 12, 218].

Cette méthode consiste à déposer au centre de la boîte de pétri contenant le milieu de culture, un disque mycélien issu d'une culture fongique jeune découpé

à l'aide d'un emporte pièces de 8mm de diamètre. Le dispositif ainsi obtenu, recevra les applications des biopesticides en fonction des caractéristiques de chaque molécule bioactive.

3.3.3. Evaluation de l'effet antifongique du biopesticide à base de crucifères

En ce qui concerne la formulation à base de crucifères, la dose complète choisie étant d'un gramme (1g) de poudre, la demi-dose de 0,5 gramme et le quart de dose de 0,25g. Les différentes doses préalablement préparées ont été saupoudrées sur le couvercle de la boîte de pétri puis un nuage de buée de 1ml d'eau distillée stérile a été vaporisé sur le couvercle de la boîte de pétri contenant la poudre de crucifères de manière à faire libérer les substances volatiles. Par la suite, le fond de la boîte de pétri contenant le milieu de culture de base et le disque mycélien à tester ont été immédiatement déposés sur le couvercle. Les boîtes de pétri ainsi traitées sont rapidement entourées de parafilm afin de conserver au maximum les molécules bioactives.

Le témoin correspond à une boîte de pétri contenant le disque mycélien est vaporisé par un nuage de buée de 1ml d'eau distillée stérile sur le couvercle pour les deux champignons testés. Dans ce cas, chaque test est aussi répété trois fois.

3.3.4. Evaluation de l'effet antifongique du biopesticide à base d'huile essentielle de thym

Quant à l'huile essentielle, nous avons dilué un gramme (1g) d'huile essentielle de thym dans trois volumes différents d'eau distillée stérile; soit de 10ml, 20ml et 30ml, constituant les dilutions D1, D2 et D3 de concentrations respectives (0,01%, 0,02% et 0,03%).

Les disques de papier Wattman de 8 mm de diamètre, préalablement stérilisés à l'autoclave (115°C pendant 20 min), sont d'abord imprégnés de l'huile

essentielle selon les trois dilutions (D1, D2, D3), puis déposés sur le couvercle de la boîte de Pétri retournée, à raison de 1 disque imprégné par couvercle [219,220].

Les boîtes de pétri sont alors entourées avec du parafilm le long du bord pour éviter la diffusion des composés volatils de l'huile essentielle à l'extérieur.

Le témoin correspond à un disque de papier Wattman imprégné avec le même volume d'eau distillée stérile pour les quatre champignons testés. Chaque test est ainsi répété trois fois.

Les boîtes traitées sont incubées à l'obscurité à 27-28°C pendant une durée de temps de 10 jours pour les quatre champignons.

Après incubation, si la souche testée est sensible à l'effet des biopesticides (poudre de crucifères, huile essentielle de thym) utilisés, l'effet antifongique est exprimé par une faible croissance mycélienne par rapport au témoin.

3.3.5. Estimation de l'effet antifongique des biopesticides

L'estimation de la croissance mycélienne a été réalisée à deux pas de temps à savoir 5 et 10 jours après traitement par les deux bioproduits.

Pour une meilleure mesure des diamètres de croissance, toutes les boîtes ont été prises en photos numérisées puis traitées par le logiciel IMAGE TOOL (3.0). Trois mesures ont été retenues pour chaque diamètre radial.

La croissance radiale est exprimée en pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en utilisant la formule décrite par Pandey *et al* [221].

$$PI = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons testés (%).

D_c : le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon non traité (eau distillée stérile) (mm).

D_t : Le diamètre moyen de la croissance mycélienne du champignon traité (extrait pur et dilution) (mm).

3.4. Analyses statistiques des résultats

Pour la détermination du pouvoir antifongique, les trois répétitions ont été résumées par le calcul de la moyenne à l'aide de l'Excel, puis le calcul du pourcentage d'inhibition selon la formule de Pandey *et al* [221].

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des extraits vis-à-vis des souches fongiques testées et la comparaison entre les deux extraits tout en considérant les dilutions, les pathogènes et les durées après traitement, nous avons utilisé le logiciel SYSTAT, ver. 12, SPSS 2009, en déterminant la variance à l'aide de l'ANOVA (Analysis of Variance) et le GLM (General Linear Model). Les différences ont été considérées significatives à $P < 0.05$.

Les corrélations existantes entre les différentes formulations, les doses appliquées et les souches fongiques sont mises en évidence par une analyse en composantes principales (ACP). Dans ce type de test, les différents biopesticides et leurs doses ont des coordonnées comprises entre -1 et +1 et appartiennent à un cercle de corrélation. L'interprétation de l'ACP se fait à partir de l'examen du cercle de corrélation et de la position du statut des variables sur les axes factoriels [222].

L'hypothèse de l'efficacité antifongique des deux biopesticides est testée par le modèle de la distance euclidienne à un facteur contrôlé par le logiciel PAST (PAleontological Statistics, ver. 1.81) [223].

CHAPITRE 4

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

4.1. Évaluation de l'activité insecticide des biopesticides

4.1.1. Évaluation de l'activité insecticide du biopesticide à base de crucifères et du produit phytosanitaire

La fluctuation des populations résiduelles des stades larvaires de *Tuta absoluta*, a été évaluée sous l'effet des biopesticides et d'un produit phytosanitaire à activité insecticide.

4.1.1.1. Évolution temporelle de l'efficacité du biopesticide à base de crucifères et du produit phytosanitaire

Les populations résiduelles sont estimées à travers la différence entre la disponibilité des individus avant et après traitement. Une projection a été réalisée en faisant ressortir la fluctuation des populations résiduelles en fonction du temps, des matières actives et des doses d'applications.

L'évolution temporelle des populations résiduelles montre un effet progressif des matières actives qui tendent vers une similarité entre le biopesticide à base de crucifères et le traitement phytosanitaire s'étalant sur une période après traitement de 24 à 72 heures. Cependant, on note que l'effet des deux produits se révèle efficacement faible au bout de 24h, s'accroît à 48h mais n'atteint son efficacité maximum qu'au bout de 72h. La figure (4.1.) stipule une efficacité croissante et graduelle allant de celle du traitement à base de

crucifères à dose fractionnée (D6/2), à celle du Thiaméthoxam (DH); puis celle du traitement à double dose (D6) et enfin celle du traitement à dose complète (D3).

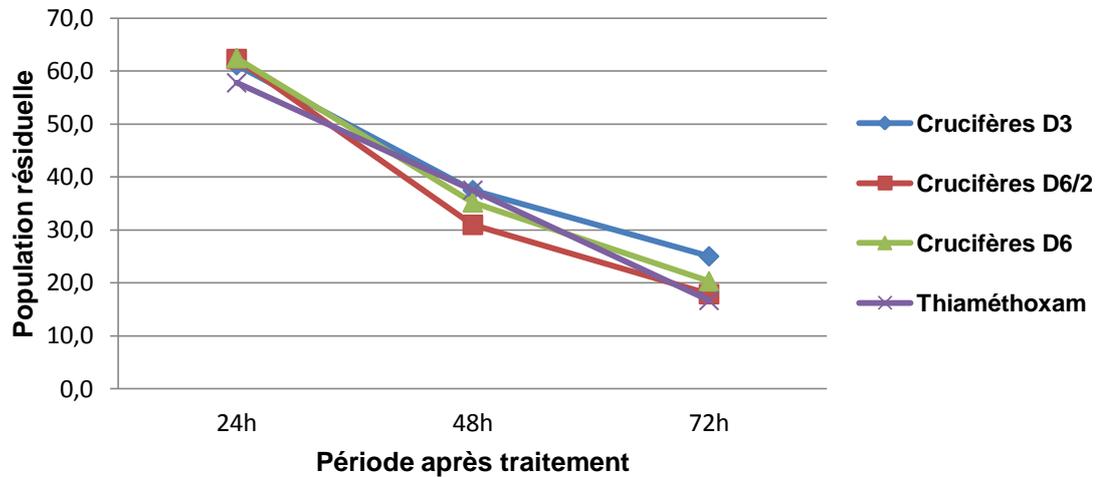


Figure 4.1. Évolution temporelle des populations résiduelles de *Tuta absoluta* sous l'effet du biopesticide à base de crucifère et du pesticide de synthèse

Le recours au test 'One-way ANOVA' nous a permis d'avancer que les valeurs des populations résiduelles obtenues présentent une différence hautement significative (F-ratio=186 ; $p=4,78 \times 10^{-8}$; $p<0,001\%$).

Tableau 4.1: ANOVA One-way appliquée à l'évolution temporelle des populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=150).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Var. inter	3420,33	2	1710,17	186	$4,785 \times 10^{-8***}$
Var.intra	82,749	9	9,19433	-	-
Total	3503,08	11	-	-	-

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

La comparaison par paires réalisée par le Test de Tukey sur les populations résiduelles informe que les taux enregistrés entre 24h-48h ; 48h-72h et 24h-72h présentent respectivement des différences hautement significatives ($p=1,834 \times 10^{-4}$; $p=3,173 \times 10^{-4}$; $p=1,832 \times 10^{-4}$; $p < 0,1\%$).

4.1.1.2. Étude comparée de l'efficacité du biopesticide à base de crucifères et du produit phytosanitaire

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à évaluer la variation temporelle de la structuration des populations résiduelles en fonction des doses du biopesticide à base de crucifères et de l'insecticide Thiaméthoxam. Ce modèle permet d'étudier l'effet strict et individuel des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre les facteurs. La fiabilité des résultats a été démontrée sur la base des permutations réalisées et qui sont au nombre de 150. L'ensemble des résultats d'analyses est consigné dans le tableau 4.2 et la Figure 4.2.

Tableau 4.2: Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=150).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Nature	213,52	1	98,28	0,172	0,954 ^{NS}
Dose	418,661	3	139,554	0,110	0,054*
Période	4152,930	2	2576,465	16,940	0,000***
Var. intra	13417,620	144	1273,73	-	-

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

Le tableau ci-dessus désigne que la nature biologique et chimique des matières actives a un effet non significatif sur la variabilité des taux des populations résiduelles (F-ratio=0,172 ; $p=0,954$; $p > 0,05$). En revanche, les facteurs doses et périodes après traitement révèlent l'existence d'une différence significative des taux des populations résiduelles avec les valeurs respectives (F-ratio=0,110 ; $p=0,054$; $p \geq 0,05$) et (F-ratio=16,940 ; $p=0,000$; $p < 0,001$).

La matière active du biopesticide à base de crucifères sur les populations résiduelles présente le même effet que celle du traitement phytosanitaire exhibant toutes les deux une toxicité moyenne (Fig. 4.2.a).

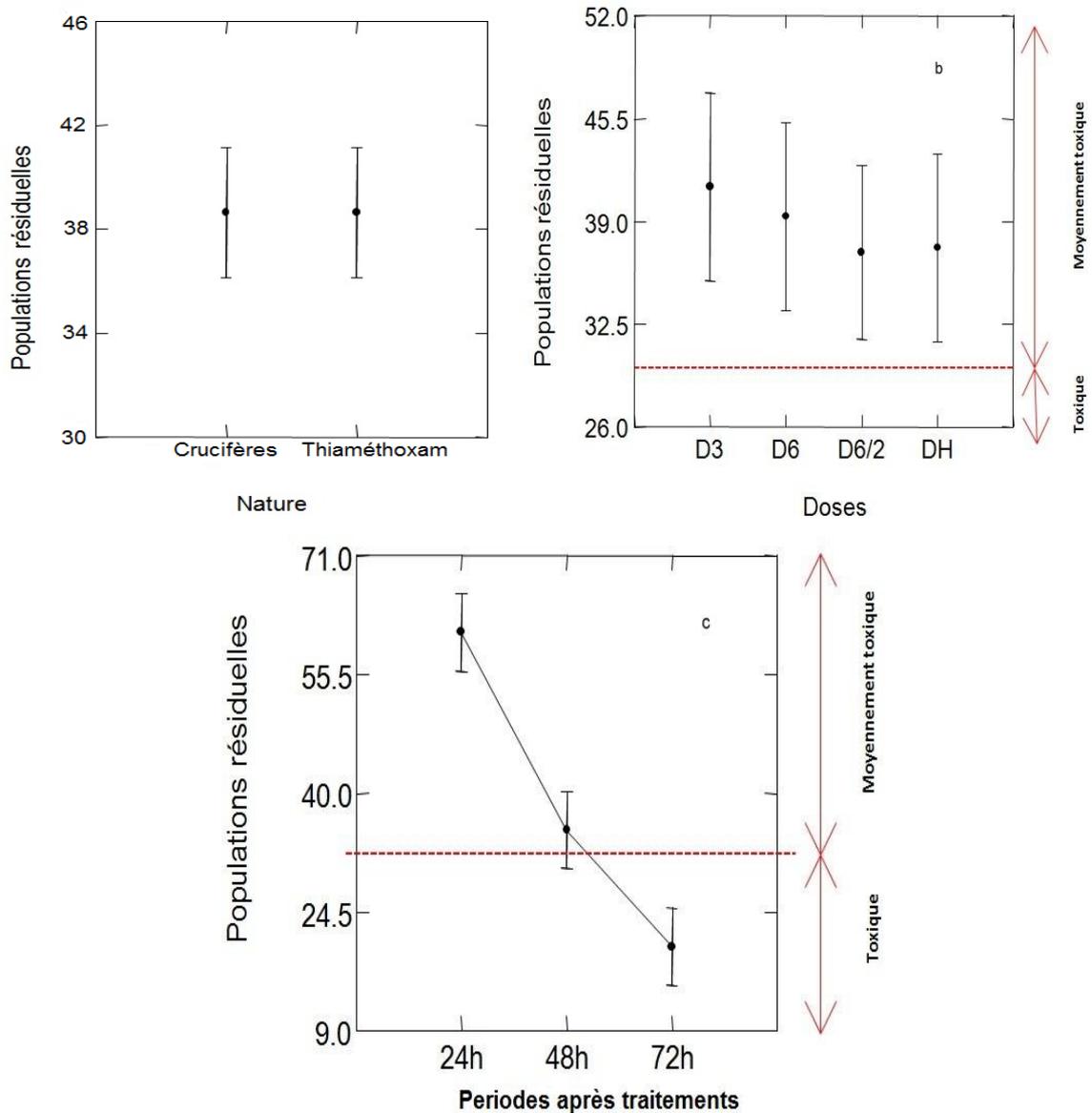


Figure 4.2. Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de *Tuta absoluta* sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base de crucifère et du Thiaméthoxam (a : produits, b : doses, c : périodes).

En se basant sur le test de Dunnett, les résultats de l'effet comparé des différentes doses appliquées lors des traitements, montrent que le biopesticide à base de crucifère appliquée à dose fractionnée (D6/2) et la dose homologuée du Thiaméthoxam (DH) présentent une tendance à la toxicité en référence aux taux de populations résiduelles dont le PR avoisine les 30%. Cet état de fait met en évidence leur efficacité par rapport au biopesticide appliqué avec la dose complète (D3) et la double dose (D6), qui désignent un taux de populations résiduelles nettement plus marqué ; soit ($PR > 30\%$) se traduisant alors par une toxicité moyenne. (Fig. 4.2.b).

Les résultats mettent au diapason l'effet net et très important du facteur temps. Cependant, les traitements utilisés présentent une faible toxicité sur les populations résiduelles à 24h ($PR > 55,5$), deviennent marginalement toxiques dès 48h ($PR \geq 30\%$) et fortement toxiques à 72h ($PR < 24,5\%$) (Fig. 4.2.c).

La confrontation des facteurs ; dose et période après traitements nous indique une progression temporelle du taux d'efficacité allant de la toxicité moyenne vers la forte toxicité. Cette tendance est vérifiée par le test de l'analyse de la variance type ANOVA où la différence est marginalement significative (F-ratio=0,078 ; $p=0,068$; $p \geq 0,05$) (Tableau 4.3.).

Tableau 4.3: Test ANOVA appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=150).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Dose	418,661	3	139,554	1,105	0,057*
Période	42623,049	2	21311,524	16,089	0,000***
Dose x Période	620,533	6	103,422	0,078	0,068*
Var. intra	182797,086	138	1324,617	-	-

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

En se référant au test de Dunnett et selon le taux des populations résiduelles révélé par l'ANOVA, il apparaît une relation étroite entre la dose du traitement et la période après traitement. Après 24h, toutes les doses du biopesticide à base de crucifères ainsi que le Thiaméthoxam ne signalent qu'une légère toxicité ($PR \geq 60\%$) (Fig. 4.3.a) alors qu'après 48h, le traitement à base de crucifères appliqué à dose fractionnée (D6/2) offre une plus grande toxicité ($PR = 30\%$). Le reste des traitements appliqués évoluent mais restent moyennement toxiques ($30\% < PR < 40\%$) (Fig. 4.3.b). Après 72h, on remarque que le temps favorise une meilleure toxicité pour tous les traitements notamment ceux du biopesticide appliqué à dose fractionnée (D6/2) et du traitement phytosanitaire (DH), lesquels enregistrent un taux de populations résiduelles bas ($PR < 20\%$) (Fig. 4.3.c).

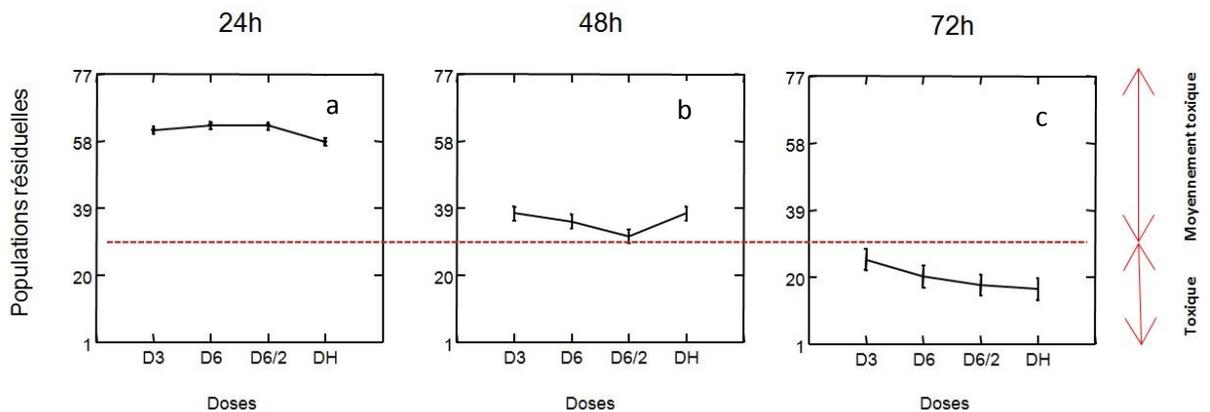


Figure 4.3. Effet comparé des populations résiduelles de *Tuta absoluta* à l'égard des différentes doses du biopesticide à base de crucifère et du Thiaméthoxam (a : après 24h, b: après 48h, c : après 72h).

4.1.2. Évolution temporelle de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire

Comme pour le biopesticide à base de crucifères, l'évolution de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire a été évaluée selon la fluctuation dans le temps du taux des populations résiduelles.

4.1.2.1. Évolution temporelle de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire

Il ressort que le traitement par l'huile essentielle de thym à dose complète (D) et le Thiaméthoxam (HD) évoluent parallèlement à la toxicité moyenne au début de l'application des traitements vers une forte toxicité à la fin du suivi. Tandis que l'huile essentielle appliquée à demi (DD) et à quart de dose (QD) montre une faible toxicité au début de leur application pour atteindre une toxicité moyenne à la fin de l'essai (Fig.4.4.)

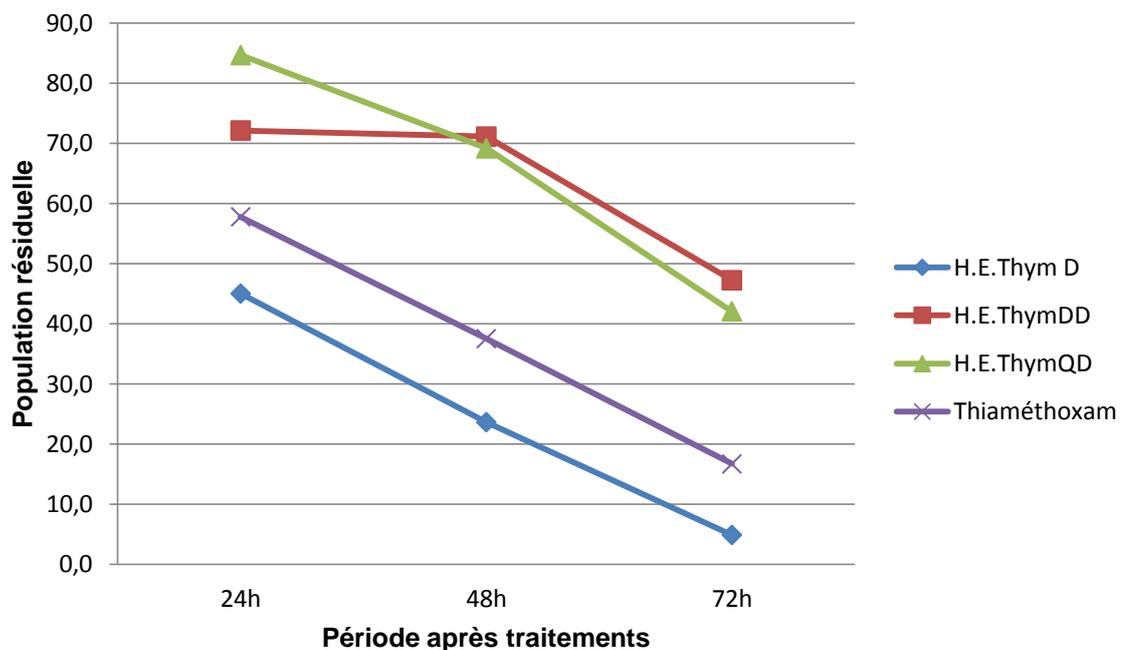


Figure 4.4. Évolution temporelle des populations résiduelles de *Tuta. absoluta* sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du pesticide de synthèse.

Les résultats du test One-way ANOVA nous permettent d'avancer que les valeurs des populations résiduelles obtenues signalent l'absence de différence significative ($F\text{-ratio}=3,345$; $p=0,08202$; $p>5\%$).

Tableau 4.4: ANOVA One-way appliquée à l'évolution temporelle des populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=150).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Var. inter	2811,93	2	1405,96	3,345	0,08202
Var.intra	3783,39	9	420,377	-	-
Total	6595,32	11	-	-	-

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

La comparaison par paires réalisée par le Test de Tukey sur les populations résiduelles informe que seuls les taux enregistrés après 24h et 72h de traitement présentent une différence marginalement significative ($p=0,07121$; $p>5\%$).

4.1.2.2. Étude comparée de l'efficacité du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) pour étudier la variation temporelle du taux des populations résiduelles en fonction des doses du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et de l'insecticide Thiaméthoxam. La fiabilité des résultats a été démontrée sur la base des permutations réalisées et qui sont au nombre de 144. L'ensemble des résultats d'analyses est présenté dans le tableau 4.5. et la Figure 4.5.

Tableau 4.5: Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=144).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Nature	3590,91	1	1234,21	0,988	0,872 ^{NS}
Dose	43382,917	3	14460,972	16,052	0,000 ^{***}
Période	33724,048	2	16862,024	18,718	0,000 ^{***}
Var. intra	124319,522	138	900,866	-	-

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

Le tableau ci-dessus indique que la nature biologique et chimique des matières actives génère un effet non significatif sur la variabilité des taux des populations résiduelles (F-ratio=0,988 ; p=0,872 ; p> 0,05). En revanche, les facteurs doses et périodes d'application révèlent l'existence d'une différence hautement significative des taux de populations résiduelles avec les valeurs respectives (F-ratio=16,052 ; p=0,000 ; p< 0,01) et (F-ratio=18,718 ; p=0,000 ; p< 0,001).

Les matières actives de l'huile essentielle à base de thym et du traitement phytosanitaire présentent le même effet sur les populations résiduelles qui se traduit par une toxicité moyenne ($43 < PR < 51\%$) (Fig.4.5.a).

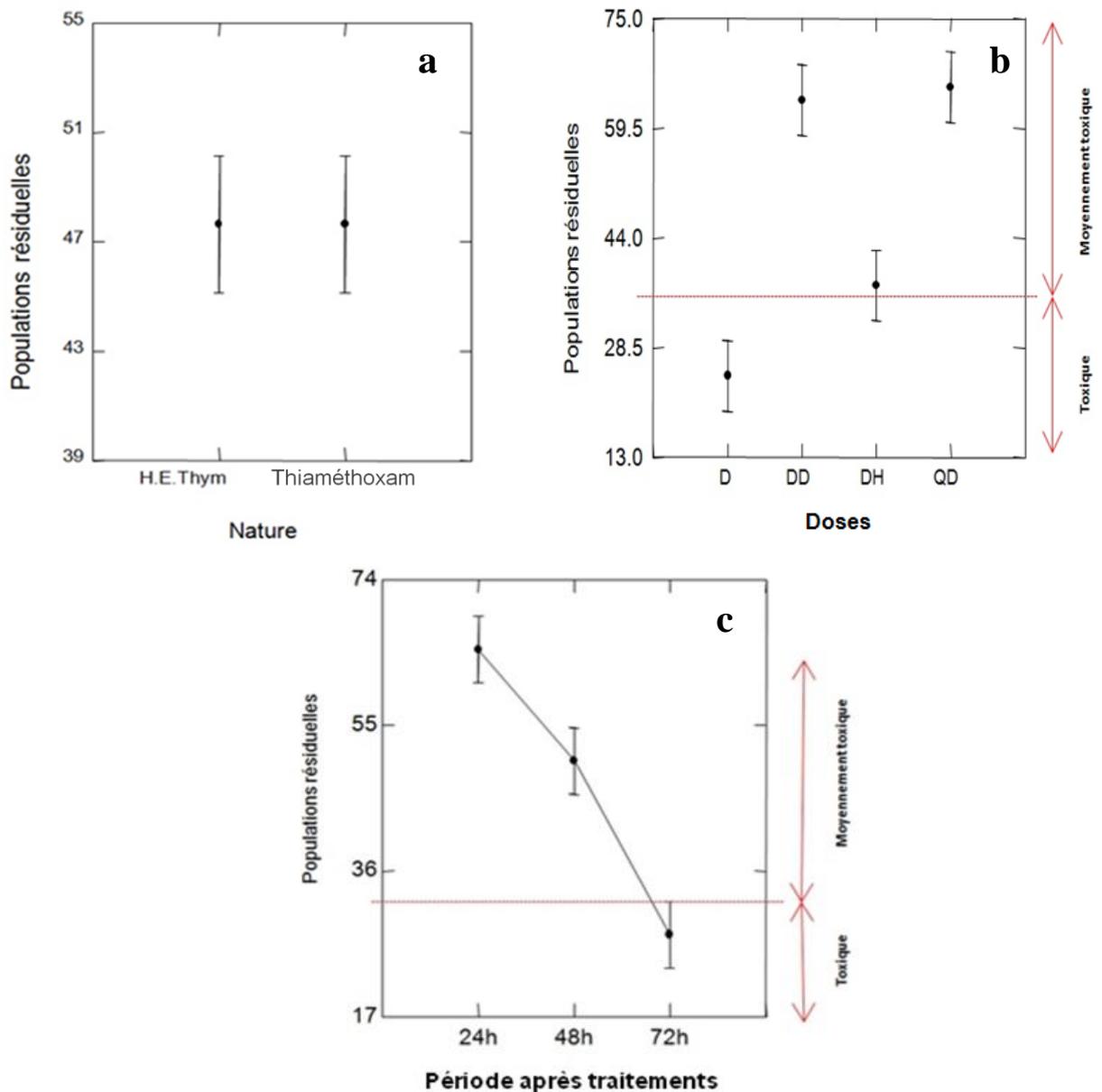


Figure 4.5. Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de *Tuta absoluta* sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du Thiaméthoxam (a : produits, b : doses, c : périodes après traitements).

Sur la base du test de Dunnett, les résultats de l'effet comparé des différentes doses appliquées lors des traitements montrent que l'huile essentielle appliquée à dose complète (D) se révèle fortement toxique ($PR < 28,5\%$) par rapport à la demie dose (DD) et au quart de dose (QD) qui paraissent faibles à moyennement toxiques ($59,5 < PR < 75\%$). Le Thiaméthoxam appliqué à la dose homologuée (DH) présente un taux de population résiduelle proche de 30% ($28,5 < PR < 44\%$) ce qui le rend plus proche de l'efficacité moyennement toxique (Fig.4.5.b).

Les résultats mettent nettement en évidence l'importance du facteur temps sur l'efficacité des différents traitements utilisés. Par suite, ces derniers présentent à 24h une faible toxicité voire neutre sur les populations résiduelles ($PR > 60\%$), deviennent moyennement toxiques à 48h ($36 < PR < 55\%$) puis fortement toxiques à 72h ($17 < PR \leq 30\%$) (Fig.4.5.c).

L'interaction des facteurs doses et périodes après traitements nous révèle une efficacité progressive dans le temps allant de la toxicité moyenne vers la toxicité. Cette approche est confirmée par le test de l'analyse de la variance type ANOVA où la différence est marginalement significative (F-ratio=0,366 ; $p=0,069$; $p \geq 0,05$) (Tableau 4.6).

Tableau 4.6.: Test ANOVA appliqué aux essais de traitements sur les populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=144).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Dose	43382,917	3	14460,972	15,610	0,000***
Période	33724,048	2	16862,024	18,201	0,000***
Dose x Période	2033,453	6	338,909	0,366	0,069*
Var. intra	122286,069	132	926,410	-	-

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

L'effet des doses des différents traitements sur le taux des populations résiduelles révélé par l'ANOVA varie en fonction du temps. Ainsi, l'application de la dose complète (D) de l'huile essentielle à base de thym à 24h présente une toxicité moyenne ($33,8 < PR < 55,2\%$) puis devient toxique à 48h ($PR < 30\%$) et enfin fortement toxique à 72h ($PR < 12,4\%$) alors que son application à demie dose (DD) ou à quart de dose (QD) montre une faible toxicité à 24h et 48h ($PR > 60\%$) et une moyenne toxicité à 72h ($38,8 < PR < 55,2\%$). Le traitement phytosanitaire (HD) quant à lui, reste moyennement toxique à 24h, devient toxique à 48h ($PR \leq 30\%$)

puis, sa toxicité s'accroît d'une manière apparente à 72h (PR<20%) (Fig.4.6.).

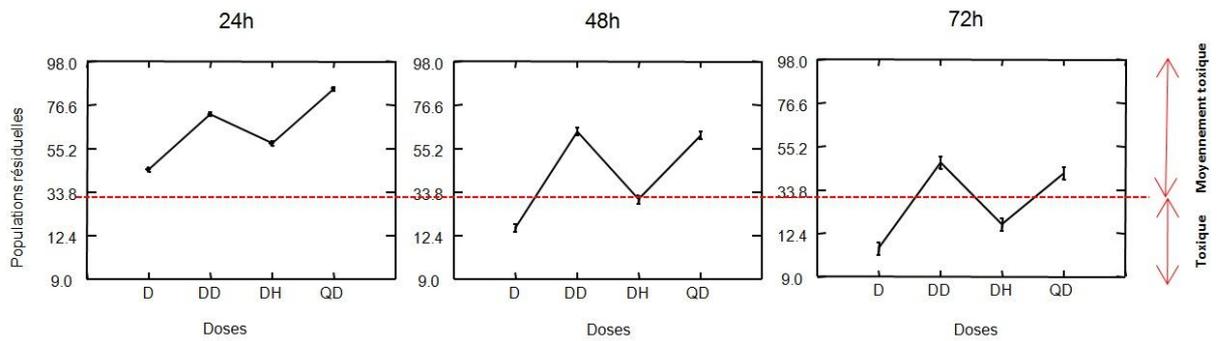


Figure 4.6. Effet comparé des populations résiduelles de *Tuta absoluta* sous l'effet des différentes doses du biopesticide à base d'huile essentielle de thym et du Thiaméthoxam (a : après 24h, b : après 48h, c : après 72h)

4.1.3. Étude comparée de l'efficacité des biopesticides à base de crucifères, d'huile essentielle de thym et du produit phytosanitaire

Le modèle général linéaire (G.L.M.) a été utilisé pour l'étude comparative des trois traitements utilisés à savoir les biopesticides à base de crucifères, de l'huile essentielle à base de thym et du Thiaméthoxam comme produit phytosanitaire sur la variation temporelle des taux de populations résiduelles de *Tuta absoluta* en fonction des doses appliquées lors des traitements.

La fiabilité des résultats a été démontrée sur la base des permutations réalisées et qui sont au nombre de 258. L'ensemble des résultats d'analyses est présenté dans le tableau 4.7 et la Figure 4.7.

Tableau 4.7: Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements biologiques et phytosanitaire sur les populations résiduelles de *Tuta absoluta* (N=258).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Nature	15975,954	2	7987,977	8,009	0,000***
Dose	38597,030	4	9649,258	9,675	0,000***
Période	65161,274	2	32580,637	32,667	0,000***
Var. intra	248340,974	249	997,353	-	-

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

Le tableau ci-dessus révèle que la nature biologique et chimique des matières actives ainsi que les facteurs doses et les différentes périodes après traitements révèlent un effet hautement significatif sur la variabilité des taux des populations résiduelles avec les valeurs respectives (F-ratio=8,009 ; p=0,000 ; p<0,01 ; F-ratio=9,675 ; p=0,000 ; p<0,001 et F-ratio=32,667 ; p=0,000 ; p<0,01).

L'étude comparée de l'efficacité des différents traitements utilisés sur *Tuta absoluta* nous permet de dire que les matières actives biologiques et chimique présentent une toxicité croissante à l'encontre des populations résiduelles commençant par celle du biopesticide à base de crucifères (PR≤30%) suivie de celle du Thiaméthoxam (PR≤15%) et enfin de celle de l'huile essentielle de thym qui enregistre une plus forte toxicité soit (PR≤13%) (Fig.4.7.a).

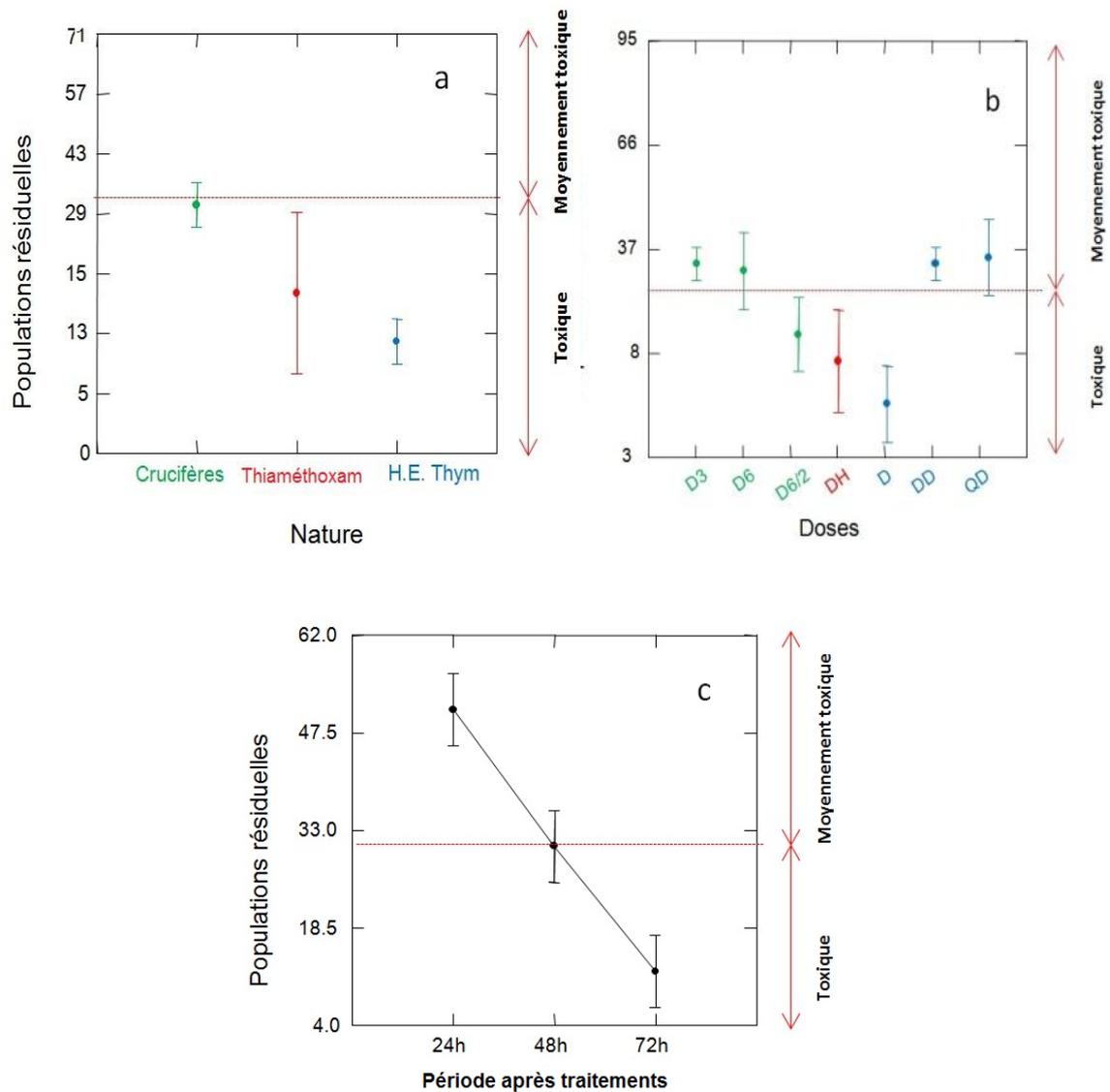


Figure 4.7. Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de *Tuta absoluta* sous l'effet des différents biopesticides et du Thiaméthoxam (a : produits, b : doses, c : périodes).

Pour l'évaluation de l'efficacité des différentes doses appliquées dans les différents traitements, on distingue clairement que pour les traitements biologiques, seules deux doses en ressortent avec une efficacité très prononcée à savoir la dose fractionnée (D/2) pour le biopesticide à base de crucifères ($PR \leq 10\%$) ainsi que la dose complète (D) pour l'huile essentielle de thym ($PR \leq 5\%$). Aussi, sur la base de la forte pression exercée par les matières actives des biopesticides, on constate un effet probant et meilleur de l'huile essentielle de thym comparé à celui des crucifères.

Quant au produit phytosanitaire, la dose homologuée (DH) s'avère plus efficace ($PR \leq 8\%$) que la dose fractionnée (D/2) du biopesticide à base de crucifères mais reste moins efficace que la dose complète (D) du biopesticide à base d'huile essentielle de thym.

De ce fait, on peut constater que des trois traitements utilisés sur *Tuta absoluta*, la dose complète (D) du biopesticide à base d'huile essentielle de thym se révèle la plus efficace et donc la meilleure en raison de son faible taux de populations résiduelles enregistré (Fig.4.7.b).

Globalement, les trois produits utilisés lors des différents traitements sur *Tuta absoluta* montrent une efficacité relativement progressive par rapport au temps. Cet effet temporel se manifeste par une toxicité moyenne à 24h ($47,5 \leq PR \leq 60\%$). En revanche, les trois produits ne sont prononcés toxiques qu'à partir de 48h ($PR = 30\%$) mais dès 72h les molécules deviennent fortement toxiques à l'égard des populations larvaires ($PR < 4 < 18,5\%$).

Nous pouvons avancer que pour les trois produits utilisés à savoir de nature biologique ou chimique, la période de 72h après traitements est scorée comme étant le meilleur temps pour l'obtention d'une toxicité optimale sur *Tuta absoluta* (Fig.4.7.c).

4.2. Évaluation de l'activité antifongique des biopesticides

L'étude du pouvoir antifongique du biopesticide à base de crucifères et de celui à base d'huile essentielle de thym a été évaluée *in vitro* sur quatre isolats fongiques à savoir *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporum* en utilisant la méthode de l'activité volatile.

Contrairement à la précédente étude qui a montré que l'huile essentielle à base de thym était plus efficace sur *Tuta absoluta* par rapport à la formulation de crucifères, l'étude du pouvoir antifongique des deux biopesticides a révélé que la

poudre de crucifères comporte une action inhibitrice sur la croissance mycélienne plus importante que celle de l'huile essentielle de thym.

4.2.1. Évolution temporelle de l'activité antifongique des biopesticides

Le champignon *Fusarium solani* traité avec l'huile essentielle de thym à différentes dilutions montre une inhibition qui augmente dans le temps et qui se traduit par le pourcentage d'inhibition de sa croissance mycélienne (PI). Cependant, après 5 jours de culture, nous constatons une augmentation du taux d'inhibition pour les trois dilutions appliquées avec une évolution respective de 15,24% pour la dilution (D3), de 13,28% pour la dilution (D2) et de 10,60% pour la dilution (D1). Après 10 jours de traitement, la dilution (D1) présente le pourcentage d'inhibition le plus élevé soit (PI=49%). (Fig. 4.8.a).

L'application des traitements avec le biopesticide à base de crucifères sur *Fusarium solani* montre les mêmes effets inhibiteurs de la croissance mycélienne dans le temps comparés à ceux observés après traitement à l'huile essentielle de thym.

Entre les deux observations réalisées (à 5 et 10 jours), le taux d'inhibition de la croissance mycélienne a doublé pour la dose complète (D) et le quart de la dose (QD) avec les évolutions respectives de 34,21% et 16,43% alors que la demi-dose (DD) n'a évolué que de 12% seulement (Fig. 4.8.b).

La comparaison des taux des zones d'inhibition sous l'effet des deux biopesticides sur *Fusarium solani* montre une similitude de l'évolution temporelle de la croissance mycélienne avec une augmentation de celui-ci à 10 jours. La dose complète (D) du biopesticide à base de crucifères a enregistré le pourcentage d'inhibition le plus marqué (PI=70%).

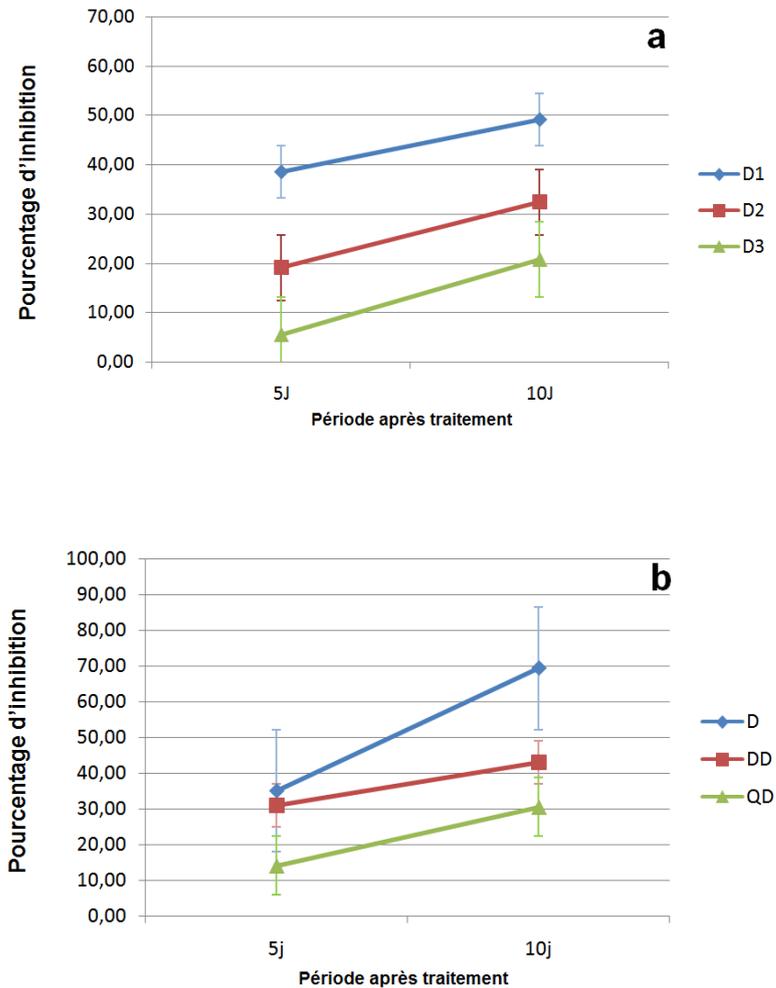


Figure 4.8.: Évolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien de *Fusarium solani* sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b).

L'huile essentielle de thym appliquée sur *Rhizoctonia solani* montre qu'après 5 jours de traitement, une évolution temporelle du taux d'inhibition de la croissance mycélienne a été notée. Cette progression est de 22,58% pour la dilution (D1), de 8,75% pour la dilution (D2) et de 8,45% pour la dilution (D3). La dilution (D1) révèle le taux d'inhibition le plus marqué par rapport à celui des deux autres dilutions (Fig. 4.9a).

Le biopesticide à base de crucifère appliquée sur *Rhizoctonia solani* montre une progression parallèle du taux d'inhibition de la croissance mycélienne dans le temps (de 5 à 10 jours) et cela pour les trois doses utilisées lors des traitements. La dose complète (D), la demi-dose (DD) et le quart de dose (QD) évoluent respectivement de 13,68%, de 12,83% et de 10,93% (Fig. 4.9b).

L'effet comparé des deux biopesticides sur *Rhizoctonia solani* montre une évolution progressive dans le temps (5 à 10 jours) du taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour les différents traitements appliqués mais la dilution (D1) du biopesticide à base d'huile essentielle de thym révèle après 10 jours le pourcentage d'inhibition le plus important ($PI \geq 55\%$).

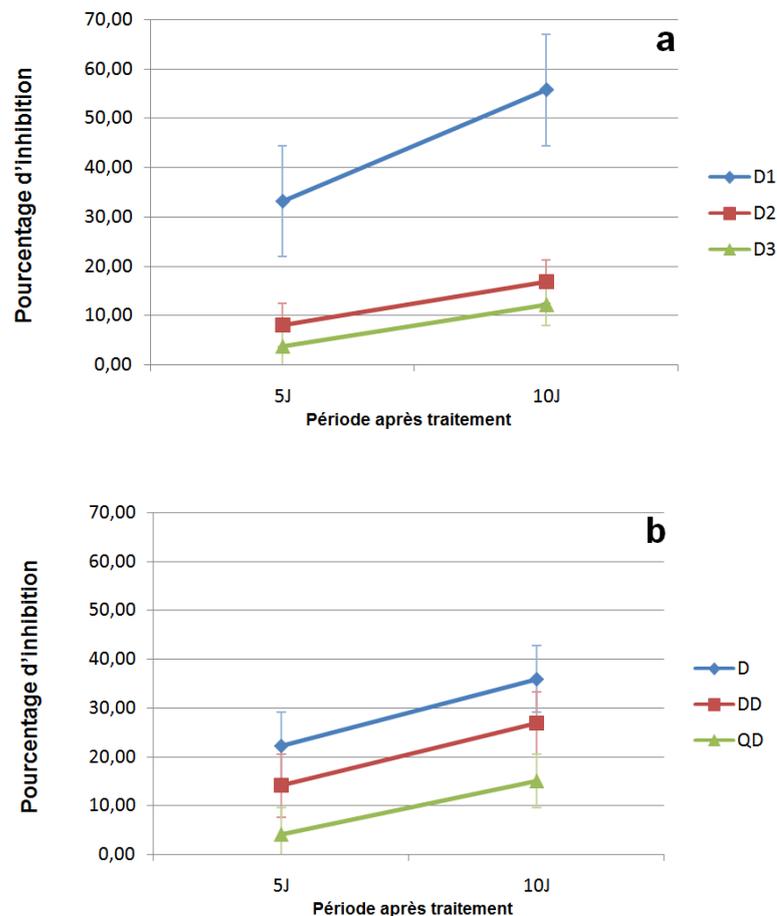


Figure 4.9: Évolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien de *Rhizoctonia solani* sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b).

Le traitement d'*Alternaria alternata* par la dilution (D1) de l'huile essentielle de thym indique une évolution temporelle progressive qui enregistre de 5 à 10 jours un taux d'inhibition de la croissance mycélienne évoluant de 9,47%. Les dilutions (D2) et (D3) montrent également une évolution dans le temps mais qui se traduit par des taux d'inhibition relativement faibles. (Fig. 4.10a).

Le champignon *Alternaria alternata* traité par le biopesticide à base de crucifères montre de 5 à 10 jours une augmentation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour toutes les doses appliquées avec une évolution allant de 26% pour la dose complète (D), suivie de 21% pour la demi-dose (DD) et enfin de 18% pour le quart de dose (QD). Cependant, la dose complète offre le taux d'inhibition de la croissance mycélienne le plus élevé (Fig. 4.10b).

La comparaison de l'effet des deux biopesticides sur *Alternaria alternata* montre une nette sensibilité de ce champignon vis-à-vis du biopesticide à base de crucifères par rapport à l'huile essentielle de thym. Toutefois, après 10 jours de traitement, la dose complète (D) présente le taux d'inhibition de la croissance mycélienne le plus important (PI>50%).

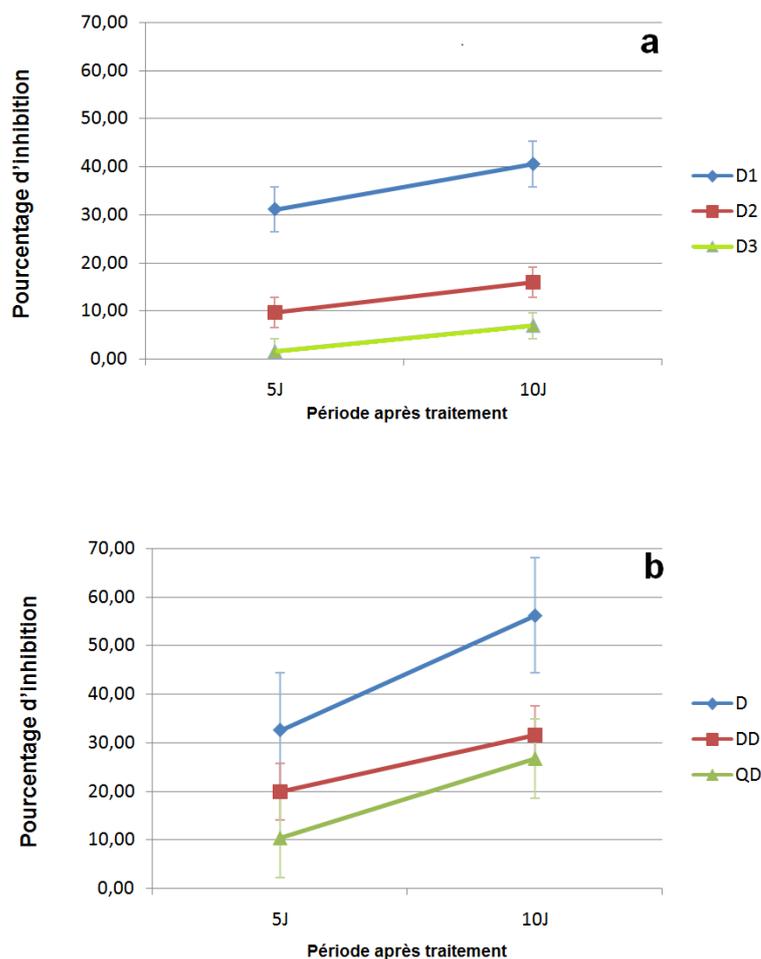


Figure 4.10: Évolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien d'*Alternaria alternata* sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b).

De 5 à 10 jours, le champignon *Fusarium oxysporum* traité à l'huile essentielle de thym affiche une progression continue du taux d'inhibition de sa croissance mycélienne pour les trois dilutions utilisées avec une évolution de 27,29% pour la dilution (D1), de 20,10% pour la dilution (D2) et enfin de 17,75% pour la dilution (D3). Le taux d'inhibition le plus élevé est présenté par la dilution (D1) (Fig. 4.11a).

L'application du biopesticide à base de crucifères sur *Fusarium oxysporum* présente en 5 jours de traitement une évolution temporelle du taux d'inhibition de

la croissance mycélienne qui augmente de 17,09% pour la dose complète (D) suivie de la double dose (DD) qui enregistre une évolution de 15,21% et enfin du quart de dose (QD) qui n'évolue que de 6,63%. Par conséquent, le taux d'inhibition le plus élevé reste celui de la dose complète (D) (PI=50%) (Fig. 4.11b).

Globalement, la variation temporelle des deux biopesticides sur *Fusarium oxysporum* révèle des effets inhibiteurs similaires sur sa croissance mycélienne. Ainsi, il est à annoncer que le champignon *Fusarium oxysporum* se révèle plus sensible au biopesticide à base de crucifères qui montre après 10 jours de traitement un taux d'inhibition supérieur à celui à base d'huile essentielle de thym.

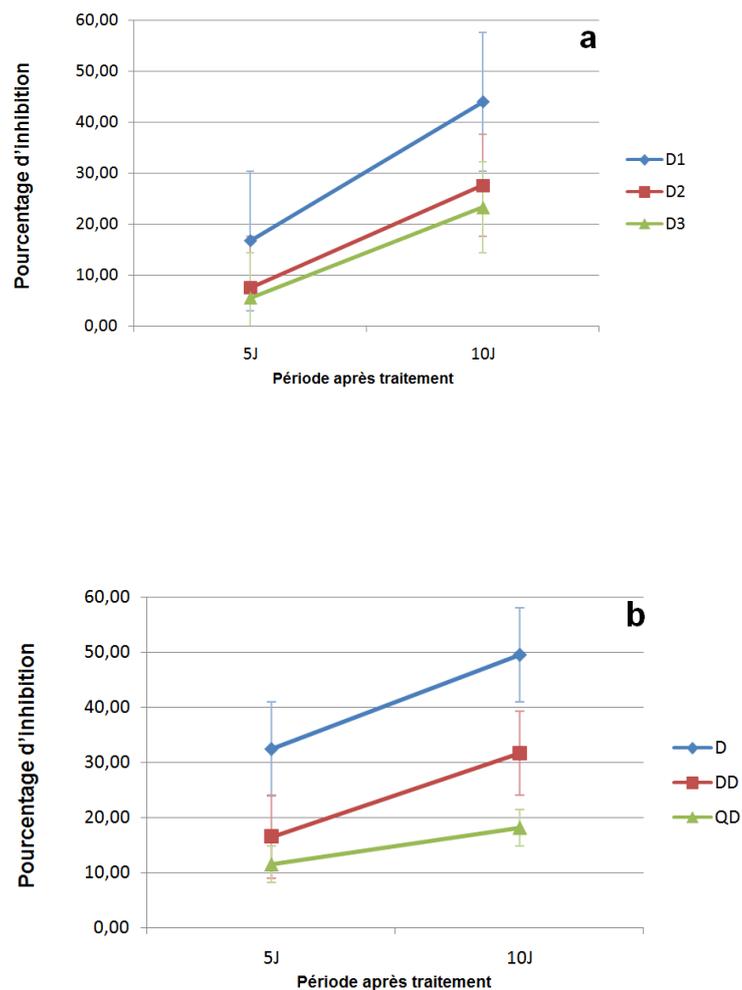


Figure 4.11 : Évolution temporelle du pourcentage d'inhibition du développement mycélien de *Fusarium oxysporum* sous l'effet du biopesticide à base d'huile essentielle de thym (a) et de crucifères (b)

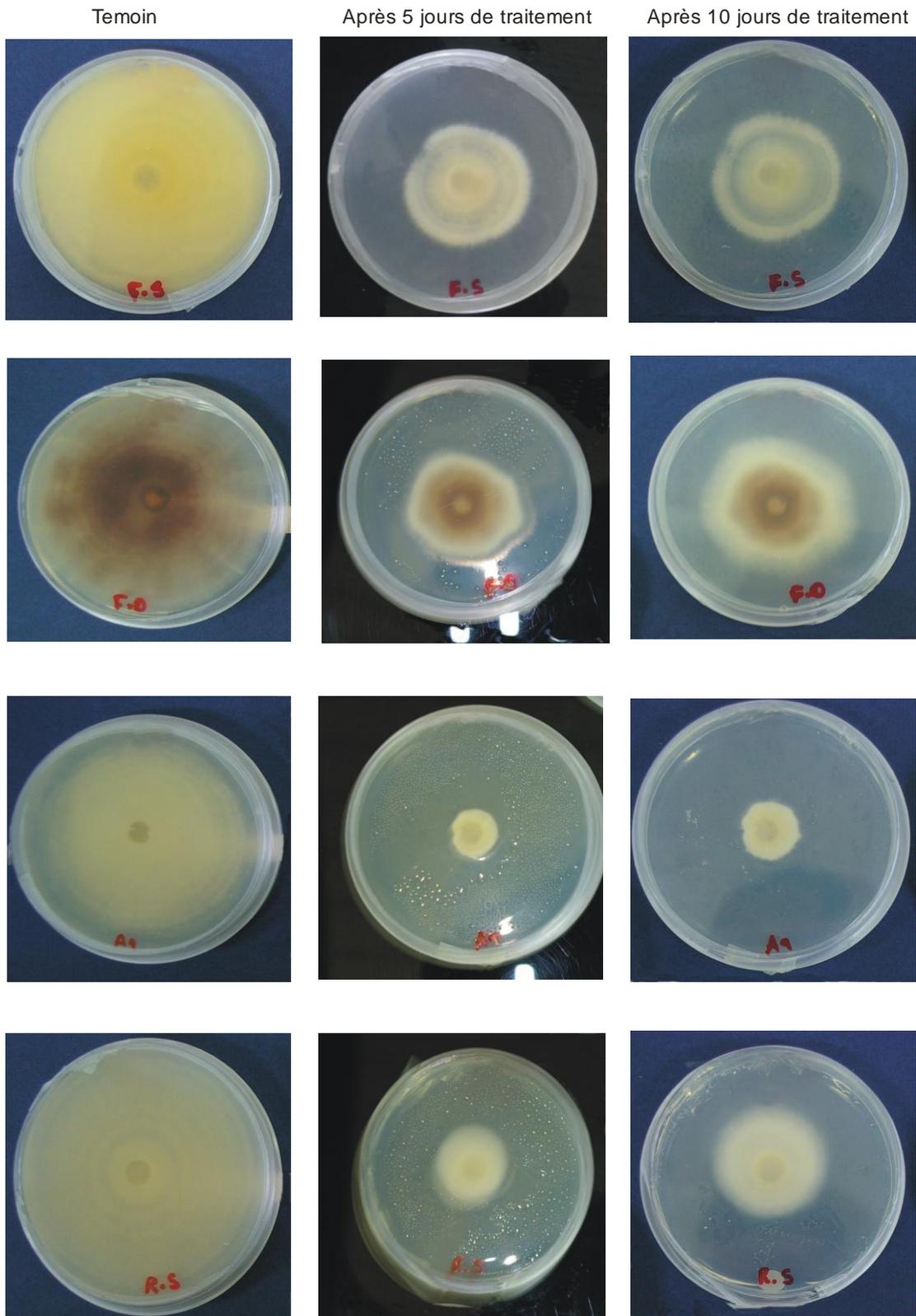


Figure 4.12 : pouvoir antifongique du biopesticide à base d'huile essentielle de thym représenté par l'inhibition de la croissance mycélienne

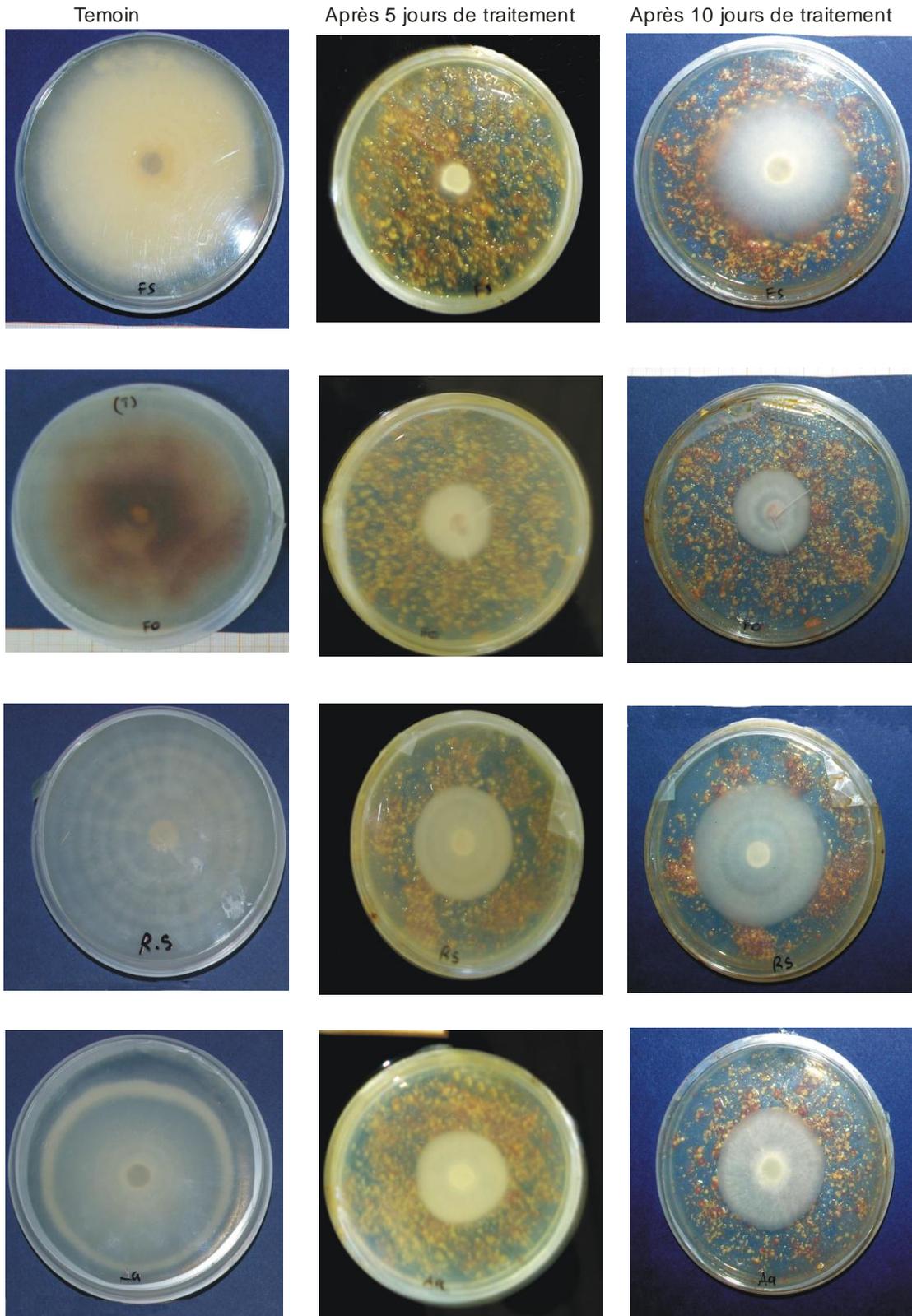


Figure 4.13 : Pouvoir antifongique du biopesticide à base de crucifères représenté par l'inhibition de la croissance mycélienne

4.2.2. Étude comparée de l'activité antifongique des biopesticides à base de crucifères, et d'huile essentielle de thym

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à étudier la variation temporelle (à 5 et 10 jours) des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes en fonction des différentes doses du biopesticide à base de crucifères et des différentes dilutions du biopesticide à base d'huile essentielle de thym appliquées lors des traitements. La fiabilité des résultats a été démontrée sur la base des permutations réalisées et qui sont au nombre de 40. L'ensemble des résultats d'analyses est consigné dans le Tableau 4.8 et la Figure 4.14.

Tableau 4.8: Modèle G.L.M. appliqué aux essais de traitements sur la croissance mycélienne (N=40).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Nature/biop	432,876	1	432,876	9,933	0,003*
Souche	955,044	3	318,348	7,305	0,001**
Dose	6117,101	2	3058,550	70,185	0,000***
Période	2432,391	1	2432,391	55,816	0,000***
Var. intra	1743,141	40	43,579	-	-

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

Le tableau ci-dessus désigne que la nature biologique des matières actives présente un effet significatif sur la variabilité des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons phytopathogènes étudiés (F-ratio=9,933 ; p=0,003; p<0,05). Par ailleurs, le facteur souche révèle une différence fortement significative sur les taux d'inhibition de leur croissance mycélienne (F-ratio=7,305 ; p=0,001; p<0,05). Les facteurs dose et période après traitement révèlent l'existence d'une différence très hautement significative des taux d'inhibition de la croissance mycélienne avec les valeurs respectives (F-ratio=70,185 ; p=0,000 ; p<0,01) et (F-ratio=55,816 ; p=0,000 ; p<0,001).

Les résultats obtenus de l'effet des deux biopesticides sur l'ensemble des champignons étudiés montrent que la matière active du biopesticide à base de crucifères enregistrant un pourcentage d'inhibition moyen soit ($27\% < PI < 30\%$) génère une action inhibitrice plus importante que celle du biopesticide à base d'huile essentielle qui offre un pourcentage d'inhibition plus faible soit ($22\% < PI < 25\%$) (Fig. 4.14a)

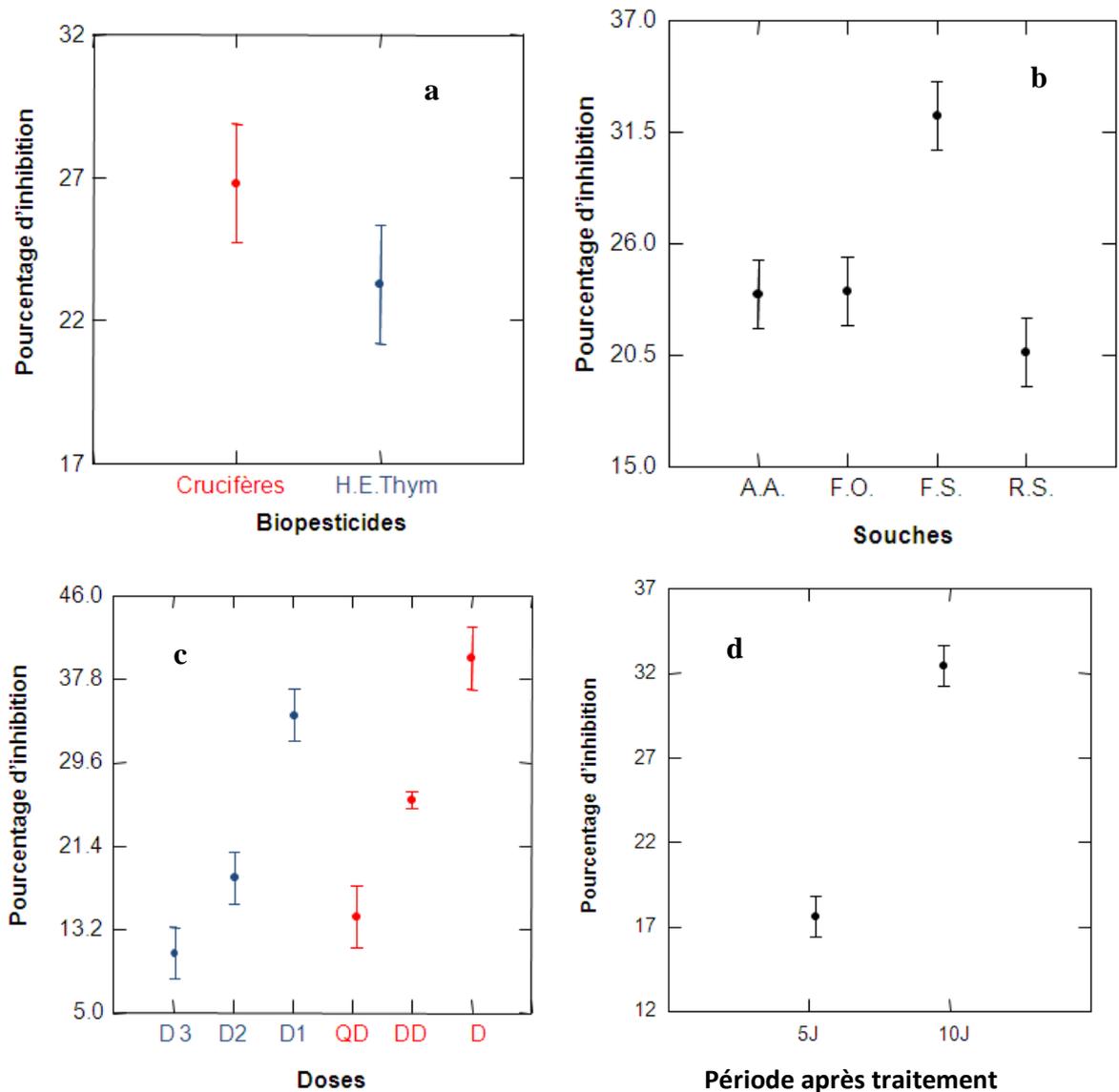


Figure 4.14. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes sous l'effet des biopesticides (a : biopesticides, b : isolats fongiques, c : doses, d : périodes après traitement)

L'étude de l'action antifongique des deux biopesticides sur les différents isolats fongiques montre que *Fusarium solani* présente une nette sensibilité à l'égard des deux formulations. Cette dernière se traduit par le pourcentage d'inhibition le plus élevé (PI > 31,5%) alors que *Rhizoctonia solani* enregistre le taux d'inhibition le plus bas. (PI = 20%). Les deux autres champignons *Alternaria alternata* et *Fusarium oxysporum* affichent des pourcentages d'inhibition plus ou moins similaires à savoir (20,5% < PI < 26%) (Fig. 4.14b).

Les résultats obtenus indiquent que les concentrations les plus élevées pour les deux biopesticides inhibent plus efficacement que lorsqu'elles sont diluées. Cette efficacité se traduit par un pourcentage d'inhibition important pour le biopesticide à base de crucifères par rapport à celui enregistré avec l'huile essentielle de thym soit (37,8% < PI < 46%). En revanche, la baisse du pourcentage d'inhibition va de paire avec la réduction de la concentration des doses des biopesticides utilisés mais toujours en faveur du biopesticide à base de crucifères (Fig. 4.14c).

L'évolution temporelle des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats fongiques montre un effet progressif des matières actives des deux biopesticides utilisés à savoir celui à base de crucifères et celui à base d'huile essentielle de thym. Cependant, l'effet des deux produits se révèle faible au bout de 5 jours avec un pourcentage d'inhibition (PI=17%), puis s'accroît fortement pour atteindre après 10 jours de traitement un pourcentage d'inhibition plus important (PI>32%) (Fig. 4.14d).

4.2.3. Évaluation temporelle de l'effet combiné des doses des biopesticides sur les différents isolats fongiques

4.2.3.1. Effet combiné des biopesticides sur les isolats fongiques

La confrontation des facteurs biopesticides, souches appliquées lors des traitements nous indique une progression temporelle d'efficacité se traduisant par les taux d'inhibition de la croissance mycélienne allant de l'efficacité moyenne vers

l'efficacité optimale par rapport aux conditions d'étude (expérimentales). Cette tendance est vérifiée par le test de l'analyse de la variance type ANOVA où la différence est tout juste significative (F-ratio=2,449; p=0,051; p≤0,05) Tableau 4.9.

Tableau 4.9.: ANOVA appliquée aux essais des effets des biopesticides sur les isolats fongiques (N=40).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Souches	922,957	3	307,652	4,260	0,031*
Biopesticides	488,580	1	488,580	1,001	0,165
Biopesticides x Souches	328,806	3	109,602	2,449	0,051*
Var. intra	9767,636	40	244,191	-	-

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

Selon les taux d'inhibition de la croissance mycélienne révélés par l'ANOVA, il apparaît une relation étroite entre les biopesticides utilisés et les souches traitées. Pour les trois champignons, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*, le biopesticide à base de crucifères présente une action antifongique plus importante que celle présentée par l'huile essentielle à base de thym. En revanche, pour *Rhizoctonia solani*, l'action inhibitrice des deux biopesticides se montre plus ou moins similaire avec une légère dominance de l'huile essentielle de thym.

Parallèlement, *Fusarium solani* enregistre le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec le biopesticide à base de crucifères (PI<37%) qui se traduit par sa sensibilité aux biopesticides utilisés suivi d'*Alternaria alternata* puis *Fusarium oxysporum* et enfin par *Rhizoctonia solani* (Fig.4.15).

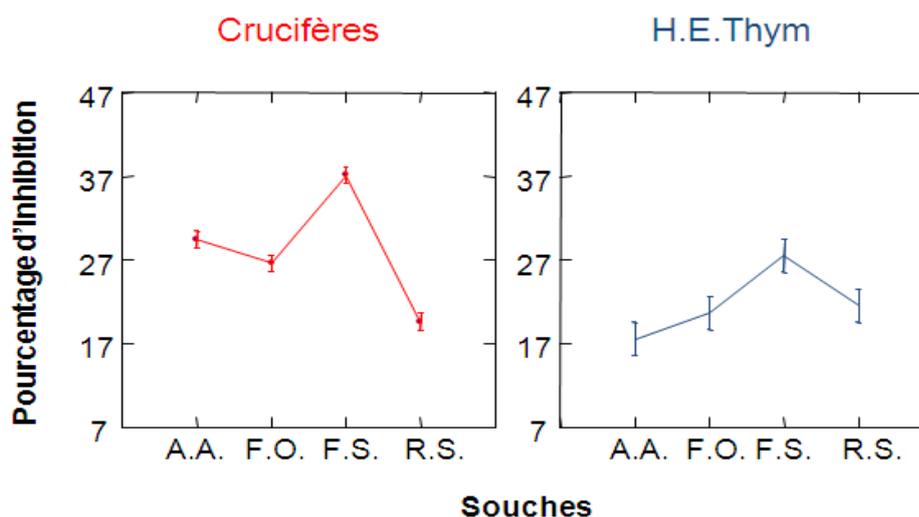


Figure 4.15. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes sous l'effet des biopesticides

4.2.3.2. Effet combiné des doses d'applications sur les isolats fongiques

Le tableau (Tableau 4.10), ci-dessous indiquant l'interaction des doses avec les souches étudiées nous permet d'avancer qu'il ya un lien étroit entre ces deux facteurs qui se traduit par un effet significatif (F-ratio=3,378 ; $p=0,043$; $p<0,05$).sur le taux de la croissance mycélienne des isolats fongiques.

Tableau 4.10: ANOVA appliquée aux essais des effets des biopesticides sur les isolats fongiques (N=40).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Souches	922,957	3	307,652	5,311	0,010*
Doses	6636,162	5	1327,232	9,971	0,000***
Doses x Souches	754,174	15	50,278	3,378	0,043*
Var. intra	3194,687	24	133,112	-	-

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

L'évaluation de l'action des doses appliquées sur les différentes souches fongiques révèle que l'huile essentielle de thym est moins efficace sur les souches

que le biopesticide à base de crucifères. Par ailleurs, la dilution (D1) présente le taux d'inhibition le plus grand non seulement pour *Fusarium solani* mais aussi pour *Rhizoctonia solani* enregistrant tous deux un pourcentage d'inhibition (PI) avoisinant

les 50% traduisant ainsi le degré de sensibilité des deux champignons à cette huile essentielle. La dilution (D2) et (D3) montrent des effets antifongiques moins importants (Fig.4.16).

Quant au biopesticide à base de crucifères, son évaluation révèle la même tendance d'évolution des quatre isolats. Cependant, elle montre que pour la dose complète (D), le champignon *Fusarium solani* reste le plus sensible par rapport aux autres en affichant le meilleur taux d'inhibition ($PI \geq 50\%$) suivi de la demi dose ($PI \leq 35,6\%$) puis du quart de dose ($PI \geq 21,4\%$) (Fig.4.16).

Les concentrations les plus fortes (D1 et D) offrent les taux d'inhibition de la croissance mycélienne les plus importants.

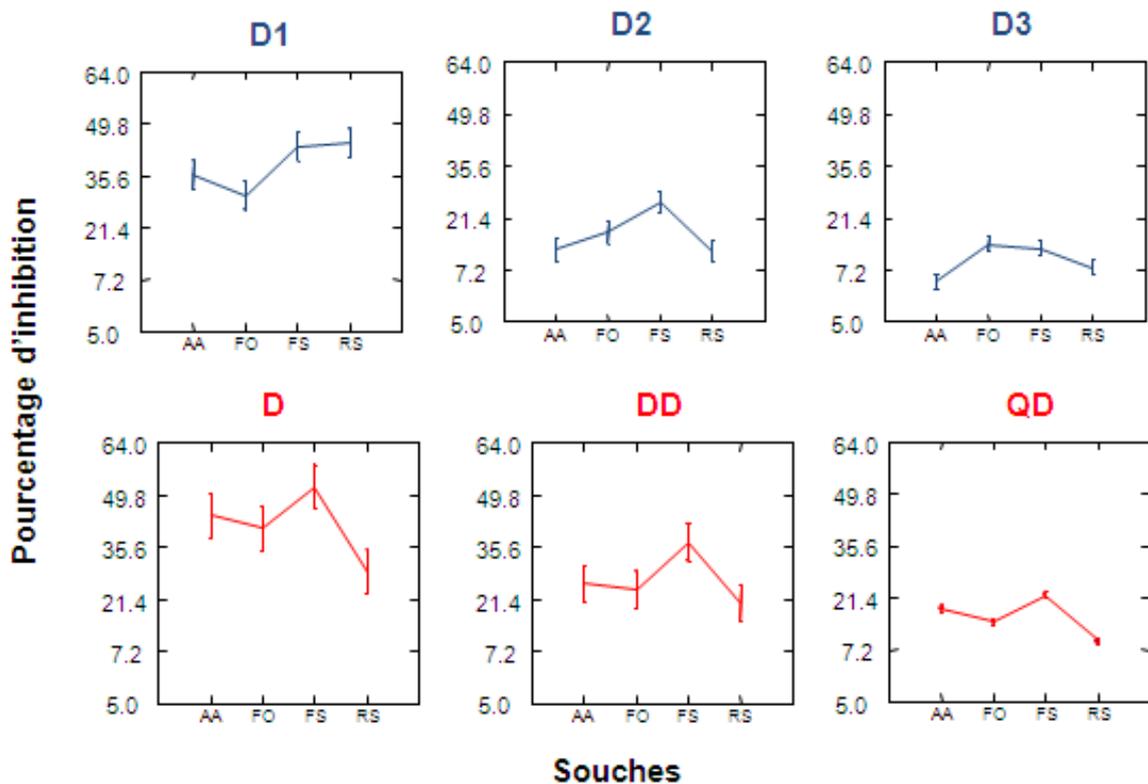


Figure 4.16. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes sous l'effet des doses d'application.

4.2.3.3. Effet combiné des périodes après traitements sur les isolats fongiques

Le tableau (Tableau 4.10), ci-dessous montrant l'interaction des différentes périodes après traitements avec les différentes souches étudiées nous permet d'avancer qu'il ya un effet marginalement significatif (F-ratio=6,111 ; $p=0,053$; $p<0,05$) sur le taux de la croissance mycélienne des isolats fongiques.

Tableau 4.11: ANOVA appliquée aux périodes d'applications sur les isolats fongiques (N=40).

Source	Somme des carrés	DDL	Moyen des écarts	F-ratio	P
Souches	922,957	3	307,652	1,562	0,214
Periodes après traitements	2639,443	1	2639,443	13,399	0,001**
Periodes x Souches	1365,859	3	5421,953	6,111	0,053*
Var. intra	7879,720	40	196,993	-	-

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

Les résultats obtenus de l'interaction des souches et des périodes après traitements nous permettent de dire que l'effet temporel des deux biopesticides se révèle plus marqué dans le temps pour toutes les doses appliquées lors des traitements. Cependant, la sensibilité de toutes les souches étudiées a augmenté au cours des deux dates de mesure (5 et 10 j) tout en maintenant son degré de sensibilité (Fig.4.17).

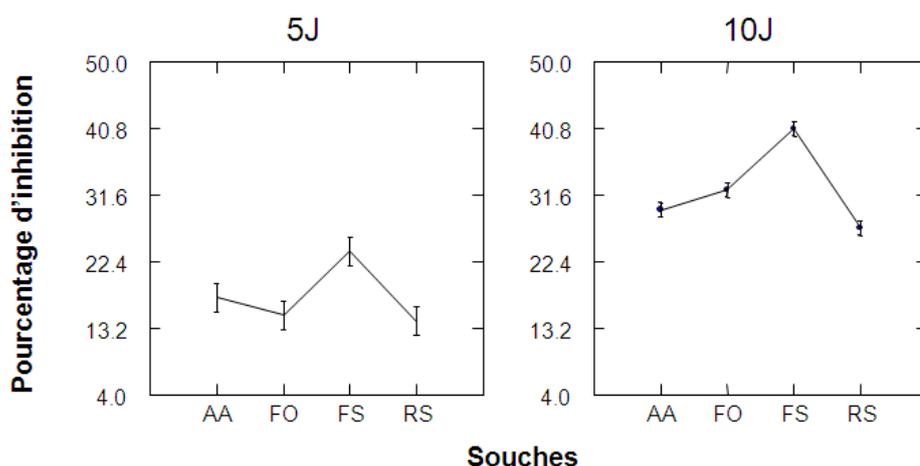


Figure 4.17. Étude comparée des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des différents isolats phytopathogènes dans le temps

4.3. Variabilité de l'efficacité antifongique sur les différents isolats phytopathogènes

Pour chacun des biopesticides étudiés, nous avons comparé les taux d'inhibition en effectuant une A.C.P. Dans les deux cas, une synthèse de la variabilité des biopesticides et de chaque dose appliquée a été effectuée. Des enveloppes ont été respectivement dessinées sur la projection F1-F2.

Sur les deux doses des trois étudiées, nous observons une séparation des enveloppes correspondant à l'effet tardif des biocides. Pour l'effet précoce, nous observons un chevauchement des évolutions des zones d'inhibition, tandis que celle de la durée de 10 jours sont toujours réparties vers le côté positif de l'axe 1 et 2. A titre d'illustration, nous avons choisi de présenter la situation de l'effet temporel de l'activité fongicide des biopesticides étudiés (Fig. 4.18).

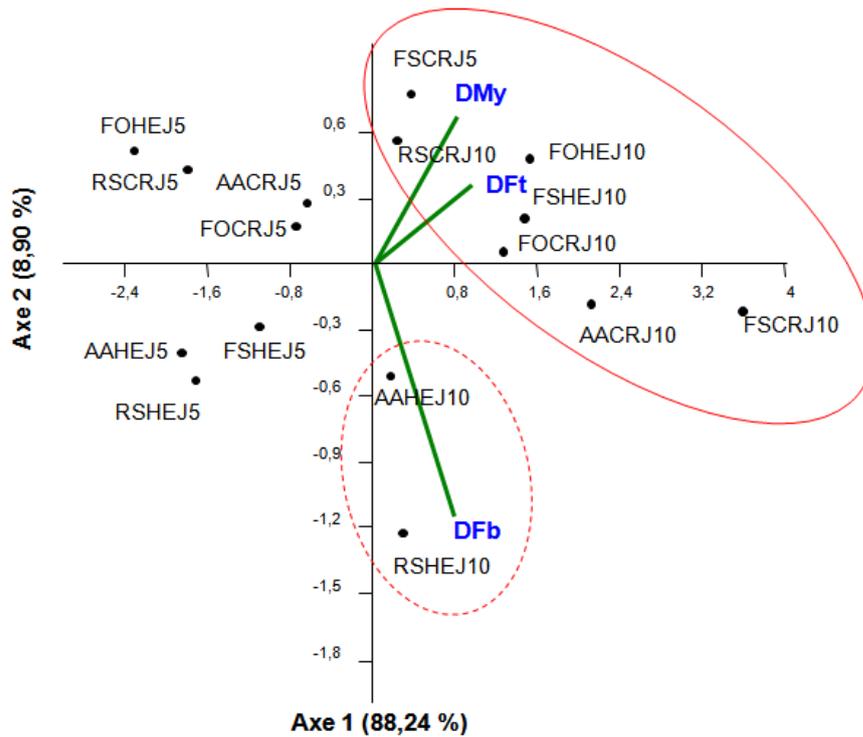


Figure 4.18. Projection de l'effet antifongique des biopesticides sur les axes F1 et F2 des A.C.P.

Dans l'enveloppe 1 (effet tardif), l'effet de la forte dose (DFt) et de la moyenne dose (DMy) se différencie de la faible dose (DFb). Le biopesticide à base de crucifères semble avoir un effet sur une large gamme d'isolats fongiques regroupant (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, et *Alternaria alternata*) comparé au biopesticide à base d'huile essentielle de thym qui n'a de contrôle efficace que sur les isolats agents de fusarioses à savoir *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum*. En revanche, les faibles doses (DFb) du biopesticide à base d'huile essentielle de thym supposent avoir un effet répressif sur les isolats de *Rhizoctonia solani*, et *Alternaria alternata*.

CHAPITRE 5

DISCUSSION GÉNÉRALE

Les ravageurs et les organismes phytopathogènes sont responsables de nombreux dégâts et maladies affectant les plantes ornementales, les cultures maraîchères et les arbres fruitiers et forestiers. L'utilisation des pesticides chimiques efficace contre les organismes a entraîné de multiples conséquences sur l'environnement. Il devient par conséquent, indispensable de contrôler biologiquement ces organismes.

Des études récentes ont montré que les produits naturels issus des plantes et les métabolites secondaires représentent une importante source de molécules pouvant être exploitées dans différents domaines entre autres la phytoprotection.

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certains métabolites issus de plantes afin de mettre au point des méthodes de lutte intégrée, peu onéreuses, efficaces et aisément utilisables par les agriculteurs.

Deux objectifs conjoints ont été menés tout au long de ce travail. Le premier concernait l'étude sur la tomate cultivée en conditions contrôlées, de l'activité insecticide sur *Tuta absoluta*, de deux pesticides biologiques issus de plantes. Le second, est de tenter de trouver un éventuel pouvoir biopesticide *in vitro* des deux bioproduits cités ci-dessus à l'égard d'une collection d'isolats de champignons phytopathogènes de la tomate. Ces objectifs ont été conduits dans le but ultime de rechercher une activité à la fois insecticide et fongicide.

Certaines espèces végétales appartenant à la famille des Crucifères ou de Labiées, sont abondantes et envahissent les aires des cultures en Algérie. L'exploitation des propriétés pesticides de ces plantes, permettrait de valoriser ces espèces dans un contexte d'agriculture durable.

Les résultats qui vont être discutés suite aux résultats révélés par cette étude, concernent l'évaluation à la fois de l'activité insecticide sur *Tuta absoluta* et du pouvoir antifongique sur les champignons phytopathogènes; *Fusarium solani* W.C. Snyder & H.N. Hansen, (1941, *Fusarium oxysporum* (Schltdl. (1824), *Rhizoctonia solani* (J.G. Kühn) R.T. Moore 1987 et *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912) de deux biopesticides formulés. L'intérêt de cette étude réside dans le fait que ces deux groupes de bioagresseurs s'attaquent à la tomate, et par conséquent, nous avons voulu cibler ces organismes en utilisant des bioproduits qui leurs seraient efficaces en même temps.

Cette approche préliminaire constitue dans la phytoprotection, une orientation plus intelligente et surtout rentable par utilisation de nouvelles formulations à base de molécules bioactives à double intérêt pesticide (insecticide et fongicide).

Les résultats de cette étude semblent être intéressants et confirment leur pouvoir protecteur vis-à-vis des bioagresseurs ciblés. Toutefois, ils dénotent les aspects suivants ;

1. Activité insecticide, efficacités tardives et effets choc similaires des deux formulations de biopesticides

Les résultats relatifs aux traitements biologiques par le biais de la formulation à base de crucifères, de l'huile essentielle à base de thym et du traitement chimique ont montré une toxicité temporelle plus ou moins similaire. Les applications réalisées ont enregistré une efficacité tardive. L'effet choc signalé sur les populations résiduelles à partir de 48 heures s'est accentué au bout de 72

heures. Les mêmes résultats nous ont permis de signaler une gradation de toxicité allant de la dose complète (D3) puis la double dose (D6) et enfin la dose fractionnée (D6/2) pour la formulation à base de crucifères et de la dose complète (D) puis la demi dose (DD) et enfin le quart de dose (QD) pour l'huile essentielle à base de thym. Cet état de fait nous amène à suggérer deux hypothèses.

La première est relative à la similarité de toxicité entre le traitement biologique à base de crucifères et le traitement chimique. Même avec des modes d'action différents, les deux molécules ont eu un effet répressif sur les larves mineuses de *Tuta absoluta*. Cela suggère que la molécule biologique testée a pu atteindre le site ciblé de la larve à travers l'émanation et/ou la pénétration des molécules après pulvérisation de l'eau sur la poudre de crucifères appliquée. Nos conclusions rejoignent celles de plusieurs études qui se sont intéressées à la biodésinfection par les brassicacés, En effet, Les propriétés biocides des glucosinolates ont été démontrées sur des organismes de structure cellulaire et de mode de vie différents comme les insectes, les nématodes, les champignons et les bactéries [189].

Il a été montré que chez les herbivores, les glucosinolates agissent directement sur des paramètres liés à la fitness des phytophages tels que la croissance, le développement, la reproduction ou la longévité [224].

Les glucosinolates entrent en contact avec la myrosinase et sont hydrolysés en composés actifs, comme les Isothiocyanates, qui sont toxiques aussi bien en phase gazeuse, que par contact ou après ingestion. Par ailleurs, la toxicité des glucosinolates revient à leurs propriétés physico-chimiques requises pour se diffuser dans les tissus de la plante [226].

Sur des chenilles légionnaires, des résultats ont permis de montrer que *Spodoptera eridania* (Cramer) faisaient moins de dégâts sur les pieds d'une brassicacée, en l'occurrence, la moutarde brune riche en glucosinolate et myrosinase que sur ceux en contenant moins [227].

Par ailleurs, plusieurs études ont établi que les isothiocyanates aromatiques avaient une activité insecticide sur les larves et les œufs de charançons [228]. Ainsi, BODNARYK [229] a montré que la sinalbine, un glucosinolate aliphatique, protège les cotylédons des jeunes plants de moutarde blanche (*Sinapis alba* L 1753) de l'attaque du coléoptère *Phyllotreta cruciferae*.(Goeze).

Ainsi, pour synthétiser un ensemble de travaux, nous pouvons déduire que les glucosinolates et leurs composés de dégradation, les isothiocyanates produits par la famille des crucifères sont des composés secondaires toxiques vis-à-vis d'un très large spectre d'organismes [230, 231].

Les quantités d'isothiocyanates mises en jeu par le métabolisme à partir des GSL peuvent aussi être très répulsives pour certains insectes [232]. L'interaction entre l'insecte et les produits de dégradation des GSL se réalise à distance ou au contact de la plante. Elle pourrait parfois être retardée et avoir lieu dans l'insecte après ingestion des GSL, comme le laisse penser la découverte d'une activité myrosinase dans le puceron cendré du chou [233].

Concernant les nématodes, la toxicité plus ou moins forte des Isothiocyanates contenus dans les tissus de *Brassica.hirta* (Moench) frais a été vérifiée sur *Tylenchus semipenetrans* (Cobb) et *Meloidogyne javanica* [194].

La seconde hypothèse repose sur l'effet toxique des doses appliquées. Cependant, la dose fractionnée (D6/2) s'est individualisée par rapport aux autres doses en enregistrant le taux de toxicité le plus élevé. Cette dernière pourrait être expliquée par le chevauchement des produits de dégradation et de ceux libérés par le second apport qui à travers ce procédé a assuré une couverture d'efficacité assez prolongée causant ainsi une nuisance au développement des larves de *Tuta absoluta*. Des travaux ont montré qu'en cas de renouvellement trop rapproché des traitements, l'effet du pyrèthre sur les acariens s'amplifie [234]. Ces résultats ont également été constatés en Suisse sur une autre espèce *Amblyseius andersoni* (Chant, 1957) (Acarien, Phytoseiidae)[235].

L'hypothèse avancée précédemment concorde avec les conclusions de REAU et *al.* [236], Les Brassicacées sont appelées à être utilisées en biofumigation pour leur contenu en GSL précurseurs d'isothiocyanates. Ces derniers présents dans ces plantes peuvent être rangés dans l'ordre de leur volatilité croissante de la manière suivante : 2-phényléthyl-, benzyl-, penten-4-yl-, but-3-enyl et allyl- ce qui signifie que le phényléthyl-ITC serait beaucoup plus persistant que l'allyl-ITC qui peut disparaître au fur et à mesure de sa formation. Ces caractéristiques de volatilité peuvent augmenter ou diminuer l'efficacité de l'action de l'ITC sur le récepteur selon que celui-ci sera sensible à une action « coup de fouet » ou au contraire longue durée. En fonction de la sensibilité des cibles ou récepteurs et de leur accessibilité, les effets d'un même ITC peuvent donc être différents. Cependant, il est possible de connaître dans les plantes utilisées en fumigation (colza, moutardes blanche et brune) la teneur et la nature des GSL, et ainsi de prévoir leur efficacité potentielle en traitement de biofumigation sur la base des propriétés des produits de leur dégradation. En général, la dégradation des GSL conduit à l'obtention du benzyl-ITC et du penten-4-ylITC. Ces dernières molécules présentes en abondance, maintiennent leurs effets potentiels.

Chez le colza, le potentiel de biofumigation est notable à cause du pent-4-ényl-ITC (partie aérienne) et du phényléthyl-ITC (racines). Ces deux ITC ont des actions respectivement rapide et lente qui peuvent présenter une complémentarité intéressante. Chez la moutarde blanche, le potentiel provient du phényléthyl-ITC (racines), du benzyl-ITC (parties aériennes et racines) et du pent-4-ényl-ITC (parties aériennes). Globalement, les ITC de la moutarde blanche sont moins volatils que ceux du colza et devraient avoir une action plus lente. [236]

Chez la moutarde brune, les alcényl GSL sont présents en quantité importante dans les parties aériennes et sont hydrolysés en ITC volatils susceptibles d'avoir une action rapide. Les mêmes auteurs concluent que pour les trois plantes, les teneurs observées en GSL et les propriétés connues des produits de dégradation indiquent que la moutarde brune doit avoir l'action la plus

puissante. En revanche, le colza et la moutarde blanche sont capables de libérer des ITC à action plus lente. [236]

Quant à la dose complète (D3) et à la double dose (D6), leur toxicité maximale a été signalée au bout de 72 heures. Cela confirmera les informations déjà citées plus haut stipulant la dégradation entière des ITC après application en une seule prise.

Pour la formulation d'huile essentielle à base de thym, les doses testées présentent un effet toxique temporel qui évolue vers son maximum après 72 heures de traitements. Les résultats obtenus confirment l'effet toxique de la dose complète (D) de l'huile essentielle à base de thym comparée à la dose homologuée du Thiaméthoxam (TH) et aux autres dilutions (DD) et (QD). La répression très accusée des populations larvaires résiduelles de *Tuta absoluta* sous l'effet de la dose complète (D) pourrait s'expliquer par la différence du mode d'action du biopesticide et du pesticide de synthèse.

Nous pensons que le premier agirait par contact alors que le second agirait par ingestion. Par conséquent, l'organisme cible peut présenter une capacité de métaboliser les matières actives en fonction de leurs voies de pénétration.

La présente hypothèse rejoint les travaux ayant traité la toxicité des pesticides à modes d'action différents. Le produit ingéré passe dans les organes de détoxification (intestin moyen, tubes de Malpighi), avant d'être réparti dans tout le corps [236]. Par contre, le produit appliqué sur le thorax traverse la cuticule au travers des canalicules cireux et la distribution s'effectue directement dans l'organisme, plus particulièrement dans les zones les plus lipophiles [237, 238]. L'hémolymphe véhicule la molécule dans tout le corps de l'insecte [239]. Il a été démontré une accumulation progressive des molécules toxiques dans la corde nerveuse puis dans les corps gras (site à monooxygénase) chez la blatte américaine (*Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758) (Orthoptéroïdæ, Blattaria) [240].

Concernant la différence de toxicité de la demi-dose (DD) et du quart de dose (QD) par rapport à la dose complète (D), celle-ci pourrait s'expliquer par la vitesse de métabolisation. On sait que les arthropodes métabolisent en quelques heures la plupart des matières actives des pesticides de synthèse [241], mais aucune étude n'a encore été faite sur la métabolisation des molécules bioactives des huiles essentielles. Il serait intéressant d'étudier plus finement cet aspect afin d'expliquer le mode d'action et le devenir de ces produits biocides

Par rapport à l'activité temporelle des molécules testées, nous avons constaté une diminution sensible des taux des populations résiduelles. La différence de toxicité observée entre le laps de temps de 24 heures à 72 heures s'explique probablement par la vitesse d'action des produits.

Les huiles essentielles agissent selon le rythme de largage de la molécule bioactive enrobée dans la silice qui selon le concepteur, la formulation assure une couverture sanitaire de près de 96 heures. Alors que la poudre de crucifères, permet d'assurer une protection selon la vitesse de réaction aboutissant à la formation des gaz.

SMITH et KIRKEGAARD [243], signalent que la composition en glucosinolates, détermine la formation de divers isothio- et thiocyanates. Ces dernières sont à la fois volatiles et toxiques. C'est la composition des molécules formées qui détermine l'efficacité du gaz libéré, car la toxicité varie selon la molécule. Outre la toxicité potentielle du gaz, c'est la sensibilité de l'organisme visé (champignon, bactérie, insecte, nématode, mauvaise herbe) qui détermine l'efficacité de la biofumigation.

Les données relatives à la comparaison de l'efficacité des deux biopesticides utilisés nous montrent que l'huile essentielle à base de thym présente une suprématie de toxicité sur les larves de *T. absoluta*. La persistance de l'efficacité de la formulation de l'huile essentielle à base de thym est meilleure vis-à-vis des larves de *T. absoluta* pendant 72 heures au moins. Le support

d'adhésion de l'huile, à savoir les particules de silice aurait pour effet de déclencher l'évaporation des matières actives, d'augmenter la concentration en huile et prolongerait ainsi l'efficacité de la formulation.

Pour le biopesticide à base de poudre de crucifères, la toxicité obtenue après son application laisse penser qu'il ya eu un enchainement réactionnel aboutissant à la libération de gaz à activité insecticide mais la caractérisation de ces réactions restent souvent ambiguës. Quant à leur rémanence, les données sont quasi inexistantes dans la littérature.

Les formulations testées dans notre expérimentation ont pour intérêt d'être faciles à mettre en œuvre en plein champ, bien que la rémanence de ces deux formulations soit limitée et les risques de réinfestation existent suite à la disparition de l'effet répressif observé durant les 72 heures. Toutefois, leur action permet d'éliminer un maximum de populations larvaires ; c'est donc une activité biologique intéressante à l'égard de *T. absoluta*.

En effet à ce stade de l'étude, nous pouvons conclure que les deux biopesticides formulés semblent donc manifester vis à vis des larves de *T.absoluta*, une toxicité beaucoup plus par contact direct que par inhalation.

2. Inhibition de la croissance mycélienne mais activité fongicide divergente, des deux biopesticides

L'étude du pouvoir antifongique des deux biopesticides a été évalué *in vitro* sur quatre isolats fongiques à savoir *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* et *Alternaria alternata* en utilisant la technique d'activité volatile. Les résultats obtenus ont révélé un fort pouvoir antifongique des deux formulations en fonction ; des souches testées, des concentrations des doses appliquées et du temps.

Les mêmes résultats ont montré que l'effet inhibiteur *in vitro* des deux biopesticides s'est révélé efficace sur toutes les souches fongiques telluriques notamment sur *Fusarium solani*. En effet, la croissance mycélienne du champignon a été inhibée aussi bien par l'huile essentielle de thym que par la formulation à base de crucifères. Cependant, cette dernière formulation biocide a montré une action inhibitrice plus importante que celle de l'huile essentielle de thym, présentant un pourcentage d'inhibition élevé. Toutefois, la différence d'action entre les formulations considérées pourrait être expliquée par la diversité de leur composition chimique d'une part et d'autre part, par leur mode d'action.

Sous l'hypothèse de différence de la qualité phytochimique des deux biopesticides, de nombreuses recherches se sont intéressées à la caractérisation des plantes à activité fongique. Les résultats se sont révélés très informatifs sur les molécules bioactives. Cependant, les glucosinolates des crucifères, par leurs odeurs fortes et caractéristiques confèrent à ces plantes des effets antimicrobiens y compris antifongiques. La teneur en glucosinolates varie selon l'espèce, la partie de la plante et les conditions culturales et climatiques [226].

Dans des essais menés *in vitro* avec des ITC purs issus de synthèse chimique, utilisés sous forme volatile ou dilués dans un milieu gélosé, le champignon *R. solani* s'est révélé le plus sensible, alors que *Pythium irregulare* Buisman, (1927) (Oomycetes, Pythiaceae) et *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) étaient les moins sensibles, quant à *Fusarium graminearum* il exhibait une sensibilité intermédiaire [191]. Des résultats similaires ont été obtenus avec des tissus congelés puis broyés de *Brassica napus* L. (Angiosperms, Brassicaceae) et *Brassica Juncea* (L) [188]. L'efficacité de la farine de graines de *Brassica napus* a aussi été vérifiée sur *Alternaria euteiches* f. sp. *psii* [192].

Ainsi, une fraction de flavonoïdes isolée à partir des fleurs de la moutarde brune a montré une activité antibactérienne et antifongique *in vitro* vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus* Rosenbach 1884, *Sarcina lutea* (Sp), *Escherichia coli* (Escherich), *Klebsiella pneumoniae* (Trevisan) et *Candida monosa* (Sp), organismes pathogènes à l'homme [243].

Pour ce qui est des huiles essentielles, généralement, la composition chimique des huiles essentielles des espèces de thym dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine, le stade phénologique, les influences environnementales et le patrimoine génétique [244, 245, 246, 247, 248, 249]. Usuellement elles sont caractérisées par leur richesse en α -terpinène et en thymol. D'autres composés sont aussi identifiés mais à des teneurs moins importantes comme le β -ocymène, menthone, p-cymène, carvacrol et α -pinène.

Des recherches ont démontré que le thymol et le carvacrol sont parmi les composés des huiles essentielles les plus actifs contre les champignons. En effet, KARMEN et al. [251] ont testé 22 composés purs issus d'huiles essentielles sur *Coriolus versicolor* (L.) et *Coniophora puteana* (Schumacher ex Fries) et ils ont montré que le thymol et le carvacrol sont les plus actifs contre ces deux champignons agents de pourriture du bois. Beaucoup de travaux ont souligné l'efficacité antifongique des phénols terpéniques et plus particulièrement celle du thymol et/ou du carvacrol [252,157, 253, 254,255, 256]. Ces deux molécules possèdent un très large spectre d'activité antimicrobien et ils sont naturellement présents dans les essences de la plupart des espèces de thym et d'origan [251, 257, 157, 258].

L'hypothèse de divergence des modes d'actions entre les deux biopesticides, rejoint les différentes études qui ont été menées pour comprendre les mécanismes d'action des molécules bioactives des plantes, dont plusieurs attribuent cette fonction aux composants phénoliques en interaction avec la membrane plasmique des agents pathogènes.

En effet, OMIDBEYGI et *al.* [259] ont suggéré que les composants de la membrane cellulaire traversent la paroi en interagissant avec les enzymes et les protéines de la membrane, produisant ainsi un flux de protons vers l'extérieur de la cellule qui provoque des changements, et, finalement leur mort.

CRISTANI et *al.* [260] ont signalé que l'activité antimicrobienne est liée à la capacité des terpènes pour son action non seulement sur la perméabilité, mais aussi sur d'autres fonctions de la membrane cellulaire. Ces composés peuvent traverser la membrane, pénétrer ainsi à l'intérieur de la cellule et interagir avec les sites intracellulaires critiques.

LUCINI et *al.* [261], ont indiqué que l'inhibition de la croissance mycélienne est causée par les monoterpènes présents dans des extraits de plantes. Ces composants vont augmenter la concentration des peroxydes lipidiques tels que les radicaux hydroxyles, l'alcoxy et alkoperoxyl et provoquer ainsi la mort cellulaire. Les composants des extraits agiraient sur les hyphes du mycélium, provoquant la sortie des composants du cytoplasme, la perte de la rigidité et l'intégrité de la paroi cellulaire des hyphes, ce qui entraîne sa désintégration et la mort du mycélium [218].

De ce fait, les composés secondaires des plantes, entre autres, les huiles essentielles, possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches fongiques mais d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases : l'attaque de la paroi par l'extrait végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, l'acidification de l'intérieur de la cellule bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants structuraux et enfin, la destruction du matériel génétique conduisant à la mort du champignon [262].

Le mécanisme de la toxicité des phénols envers les champignons est basé sur l'inactivation des enzymes fongiques qui contiennent le groupement SH dans leur site actif [263,263, 158]. Les terpènes phénoliques agissent aussi en se fixant

sur les groupes amine et hydroxylamine des protéines membranaires microbiennes provoquant l'altération de la perméabilité et la fuite des constituants intracellulaires [265, 266, 267, 268].

Cependant, on note que l'huile essentielle de *Thymus. Bleicherianus* (Pomel) est dotée d'une activité fongicide légèrement supérieure à celle de *Thymus. capitatus*.(L) Ceci peut être attribué au fait que l'huile de *T. bleicherianus* compte parmi ses principaux constituants le thymol alors que *T. capitatus* est dominée par le carvacrol.

En effet, DORMAN et DEANS [269], ont testé un grand nombre de constituants purs des huiles essentielles contre 25 genres différents de bactéries et ils ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne suivi du carvacrol et de l' α -terpineol.

Ces mêmes auteurs ont expliqué la différence de l'efficacité antimicrobienne observée entre le thymol et le carvacrol par la position du groupement hydroxyle sur la structure phénolique des deux molécules. L'efficacité antifongique de l'essence de *T. bleicherianus* par rapport à celle de *T. capitatus* peut être due aussi à l'activité synergique entre le thymol et le carvacrol. Ces composés sont présents dans l'huile de *T. bleicherianus* avec des taux respectifs d'environ 24 % et 2,9 % alors que la teneur en thymol dans l'essence de *T. capitatus* est très faible (environ 0,4 %).

La synergie entre ces deux phénols a été constatée dans plusieurs études [252, 270, 271]. Selon ces observations, on peut spéculer que la forte activité antifongique observée chez les huiles essentielles des deux thyms peut être attribuée seulement au thymol et au carvacrol, comme elle peut être le résultat de synergies entre les différents constituants de ces huiles [272].

Selon certains auteurs, les champignons ne réagissent pas de la même manière vis-à-vis des biopesticides [273]; ce qui pourrait expliquer d'une part la sensibilité accrue de *Fusarium solani* à l'égard de la formulation à base de crucifères et d'autre part, le comportement de *Rhizoctonia solani* affichant une certaine résistance vis-à-vis de ce même biopesticide qui s'est révélé moins efficace que l'huile essentielle de thym pour cette souche.

Nos résultats corroborent avec ceux de TAFIFET, étudiant des extraits de diverses plantes spontanées montrant que les mêmes isolats fongiques ont présenté des pourcentages d'inhibition du mycélium très élevés, à l'exception de l'espèce *Rhizoctonia solani* qui s'est révélée la plus résistante avec un pourcentage d'inhibition d'environ 20% [274].

De même, BAJPAI et al. [12], signalent que le traitement avec l'extrait de *Metasequoia glyptostroboides* (Sp) à l'égard d'une collection de champignons phytopathogènes comprenant des souches de *Fusarium* (*F. solani* et *F. oxysporum*), réduit la croissance mycélienne de ces deux champignons à des pourcentages rapprochés. Ceci concorde avec les résultats obtenus dans cette étude pour les espèces des deux genres *Fusarium* et *Alternaria*, et qui s'explique par le fait que les espèces appartenant au même genre sont génétiquement proches et par conséquent, réagissent presque selon le même processus.

Les résultats obtenus de cette étude indiquent que les concentrations les plus élevées pour les deux biopesticides à savoir (D) pour la formulation à base de crucifères et (D1) pour l'huile essentielle à base de thym inhibent plus efficacement que lorsqu'elles sont diluées.

Cette efficacité se traduisant par une sensibilité accrue des champignons testés à l'augmentation des doses de la formulation dans la dilution, où le diamètre des colonies se réduit à chaque fois qu'on augmente la dose.

En revanche, la baisse du pourcentage d'inhibition va de paire avec la réduction de la concentration des doses des biopesticides utilisés mais toujours en faveur du biopesticide à base de crucifères.

Nos résultats concordent avec ceux de BENAMAROUCHE [275] et de Tafifet [274], qui ont montré que la concentration pure présente le pourcentage d'inhibition le plus important alors que les autres concentrations ont montré une activité modérée.

De ce que nous avons pu avancer comme résultats, il en ressort un certain contraste d'efficacité des deux biopesticides par rapport aux deux modèles biologiques étudiés à savoir *T. absoluta* et la gamme d'isolats fongiques. Si la formulation d'huile essentielle à base de thym présentait un fort effet répressif sur la mineuse de la tomate, les isolats fongiques ont montré une forte sensibilité vis-à-vis de la formulation à base de crucifères.

CONCLUSION

Par le présent travail, nous avons essayé de contribuer à lever le voile sur les potentialités agro-phytosanitaires des plantes aromatiques et spontanées pouvant être utilisées localement comme biopesticides dans la phytoprotection. C'est là un champ de recherche-développement qui mériterait tout l'intérêt des scientifiques, des pouvoirs publics et des acteurs économiques d'autant plus qu'un tel renouveau d'intérêt répond parfaitement aux grandes préoccupations écologiques et environnementales du monde d'aujourd'hui.

Ainsi, cette étude a montré que les résultats relatifs aux traitements biologiques par le biais de la formulation à base de crucifères, de l'huile essentielle à base de thym et du traitement chimique présentent une toxicité temporelle plus ou moins similaire en enregistrant une efficacité tardive.

Toutefois, l'effet choc signalé sur les populations résiduelles à partir de 48 heures s'est accentué au bout de 72 heures. Les mêmes résultats nous ont permis de signaler une gradation de toxicité allant de la dose complète (D3) puis la double dose (D6) et enfin la dose fractionnée (D6/2) pour la formulation à base de crucifères et de la dose complète (D) puis la demi dose (DD) et enfin le quart de dose (QD) pour l'huile essentielle à base de thym.

Cependant, pour la formulation à base de crucifères, l'effet toxique des doses appliquées a montré que la dose fractionnée (D6/2) s'est individualisée par rapport aux autres doses en enregistrant le taux de toxicité le plus élevé. En revanche, la toxicité maximale de la dose complète (D3) et de la double dose (D6), n'a été signalée qu'au bout de 72 heures.

Pour la formulation d'huile essentielle à base de thym, les doses testées présentent un effet toxique temporel qui évolue vers son maximum après 72 heures de traitements. Les résultats obtenus confirment l'effet toxique de la dose complète (D) de l'huile essentielle à base de thym comparée à la dose homologuée du Thiametoxam (TH) et aux autres dilutions (DD) et (QD).

Quant à l'activité temporelle des molécules testées, nous avons constaté une diminution sensible des taux de populations résiduelles entre le laps de temps de 24 heures à 72 heures. Les données relatives à la comparaison de l'efficacité des deux biopesticides utilisés nous indiquent que l'huile essentielle à base de thym présente une suprématie de toxicité sur les larves de *T. absoluta*. La persistance de l'efficacité de la formulation de l'huile essentielle à base de thym est meilleure vis-à-vis des larves de *T. absoluta* pendant 72 heures au moins.

En effet à ce stade de l'étude, nous pouvons conclure que les deux biopesticides formulés semblent donc manifester vis à vis des larves de *T. absoluta*, une toxicité beaucoup plus par contact direct que par inhalation.

L'étude *in vitro* du pouvoir antifongique des deux biopesticides sur les quatre isolats testés à savoir *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* et *Alternaria alternata* s'est révélée intéressante. Cependant, leur action inhibitrice s'est montrée efficace sur toutes les souches fongiques telluriques notamment sur *Fusarium solani*.

En effet, la croissance mycélienne du champignon a été inhibée aussi bien par l'huile essentielle à base de thym que par la formulation à base de crucifères, mais cette dernière a montré une action inhibitrice plus importante que celle de l'huile essentielle de thym, présentant un pourcentage d'inhibition élevé.

Les résultats révèlent une sensibilité accrue de *Fusarium solani* à l'égard de la formulation à base de crucifères, en revanche, *Rhizoctonia solani* ne se comporte pas de la même manière et semble afficher une certaine résistance vis-

à-vis de ce même biopesticide qui s'est révélé moins efficace que l'huile essentielle de thym pour cette même souche. La relance de la croissance mycélienne caractérisée par un faible pourcentage d'inhibition devrait être étudiée afin de confirmer ces résultats.

Il est à rappeler que cette étude de l'effet fongicide constitue une première étape dans la recherche de molécules biocides d'origine végétale, elle mérite d'être poursuivie par des études *in planta* pour confirmer leur activité.

Les résultats obtenus de cette étude indiquent que les concentrations les plus élevées pour les deux biopesticides à savoir (D) pour la formulation à base de crucifères et (D1) pour l'huile essentielle à base de thym inhibent plus efficacement que lorsqu'elles sont diluées. Cette efficacité se traduisant par une sensibilité accrue des champignons testés à l'augmentation des doses de la formulation dans la dilution, où le diamètre des colonies se réduit à chaque fois que la dose est augmentée. En revanche, la baisse du pourcentage d'inhibition va de paire avec la réduction de la concentration des doses des biopesticides utilisés mais toujours en faveur du biopesticide à base de crucifères.

De ce que nous avons pu avancer comme résultats, il en ressort un certain contraste d'efficacité des deux biopesticides par rapport aux deux modèles biologiques étudiés à savoir *T. absoluta* et la gamme d'isolats fongiques. Si la formulation d'huile essentielle à base de thym présentait un fort effet répressif sur la mineuse de la tomate, les isolats fongiques ont montré une forte sensibilité vis-à-vis de la formulation à base de crucifères.

Sachant que l'Algérie possède un patrimoine végétal très riche et diversifié l'implication des extraits végétaux dans la lutte éco-chimique comme facteurs de protection des plantes, pourrait s'insérer dans le cadre d'une stratégie alternative et / ou complémentaire dans la lutte contre les ravageurs des cultures en intégrant les autres méthodes de lutte et ceci dans le contexte d'une agriculture durable.

Il serait ainsi envisageable de :

- Cibler les plantes à activité insecticide et fongicide.
- Etablir une cartographie selon leur présence / occurrence dans le but de gérer la cueillette.
- Estimer la cinétique d'accumulation des principes bioactifs afin d'augmenter leur efficacité.
- Prévoir des formulations adéquates sur la base de connaissances touchant à la fois les bioagresseurs, les zones biogéographiques et enfin le mode d'application.

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

°C. Degré Celsius.

cm : Centimètre

do : Densité optique

FAO : Organisation

Fig : Figure

h : heure

H : humidité

% : pourcentage

g : Gramme

GSL : glucosinolates

ITC : isothiocyanates

mg : milligramme

h : Heure

hl : hectollitre

T : témoin

m : mètre

ml : Millilitre

mm : Millimètre

nm : Nanomètre

OEPP : Organisation Européenne de la Protection des Plantes

μ l : microlitre

Tab : tableau

Inhib : inhibition

W : Watt

APPENDICE B
Effet des différentes doses et dilution des deux biopesticides sur la croissance mycélienne des isolats fongiques

	DD	QD	P	T
FSHEJ5	7,72	8,17	5,03	6,61
FSHEJ10	5,64	6,61	4,25	8,34
RSHEJ5	7,88	7,24	5,27	7,25
RSHEJ10	6,86	7,59	3,65	8,24
AAHEJ5	6,46	6,49	2,90	5,84
AAHEJ10	5,28	5,75	2,47	7,40
FOHEJ5	7,23	7,42	7,08	6,38
FOHEJ10	5,88	6,23	4,55	8,12
FSCRJ5	5,41	7,74	5,09	7,4
FSCRJ10	4,64	5,66	2,5	8,14
RSCRJ5	6,69	7,92	6,43	8,26
RSCRJ10	7,1	7,71	5,37	8,37
AACRJ5	6,25	6,29	4,73	7,01
AACRJ10	5,77	6,19	3,70	8,43
FOCRJ5	6,00	6,98	4,72	5,83
FOCRJ10	5,44	6,18	3,71	7,33

APPENDICE C

Effet des différentes doses du biopesticide d'huile essentielle à base de thym sur l'évolution des populations résiduelles de *Tuta absoluta*

	THYMD	THYMDD	THYMQD	thiame
PR24h	45,00	72,12	84,67	57,78
PR48h	23,61	71,11	69,16	37,50
PR72h	4,86	47,22	42,05	16,67

APPENDICE D

Effet des différentes doses du biopesticide à base de crucifères sur l'évolution des populations résiduelles de *Tuta absoluta*

	CRUD3	CRUD6/2	CRUD6	thiame
PR24h	61,1	62,3	62,4	57,78
PR48h	37,5	31,0	35,2	37,50
PR72h	25,0	17,9	20,3	16,67

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 **REGNAULT-ROGER C., PHILOGENE B.J.R. ET FABRES G., 2005** – Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier Tec et Doc. Paris, 1013 p.
- 2 **VINCENT C. ET CODERRE D., 1992-** La lutte biologique. Tec et Doc Lavoisier. 12 p
- 3 **RIBA G. ET SILVY C., 1989** – La lutte biologique et les biopesticides. *In* : La lutte biologique, dossier de la cellule environnement, n°5, INRA, pp : 49-54.
- 4 **MOAZAMI N., 2002** - biopesticides production, *in*: encyclopedia of life support systems, eolss publishers co. 3- encyclopedias of biological physiological and health sciences.
- 5 **REGNAULT-ROGER C., 2002** - De nouveaux phytoinsecticides pour le troisième millénaire ? *In*: Biopesticides d'origine végétales, ed Tec & doc. Londres-Paris-New York. pp: 19-39.
- 6 **GIROUX S., CÔTÉ J.C., VINCENT C., MARTEL P. ET CODERRE D., 1994** - bacteriological insecticide m-one effects on the mortality and the predation efficiency of adult spotted lady beetle *coleomegilla maculata* (coleoptera: coccinellidae). *j. econ. entomol.* 87, pp: 39-43.

- 7 **ROGER C., VINCENT C. ET CODERRE D., 1995** - mortality and predation efficiency of *coleomegilla maculata lengi* timberlake (coccinellidae) following application of neem extracts (*azadirachta indica* a. juss., meliaceae). *j. appl. entomol.* 119, pp: 439-443.
- 8 **PANNETON B., VINCENT C. ET FLEURAT-LESSARD F., 2000** - Place de la lutte physique en phytoprotection, pp. 1-24 *in* C. Vincent, B. Panneton et Fleurat-Lessard (Eds.) La lutte physique en phytoprotection, INRA Editions, Paris, 347 p.
- 9 **AUGER J., CADOUX F. ET THIBOUT E., 1999** - *Allium spp* thiosulfinates as substitute fumigants for methylbromide. *Pestic. Sci.*, pp: 200-202.
- 10 **INDERJIT K., KEATING K.L, 2002** – Allelopathy: principales, procedures and promises for biological control. *Adv Agron* 67, pp: 141-231.
- 11 **NEGI P.S., CHAUHAN A.S., SADIA G.A., ROHINISHREE Y.S. ET RAMETEKE R.S., 2005** – Antioxidant and antimicrobial activity of various seabukthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed extracts. *Food. Chem.*, 92, pp: 119-124.
- 12 **BAJPAI V.K., RAHMAN A., AHMED Y. ET KANG S.G., 2007**- Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Industrial Crops and Products* 26, pp: 28-35.
- 13 **SIDHU O.P., CHANDRA H. ET BEHL H.M., 2009** – Occurrence of aflatoxins in mahua (*Madhuca indica*) seeds: synergistics effectof plant extracts on inhibition of *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. *Food. Chem. Toxicol.*, 47, pp: 774-777.

- 14 **BOGORN I., SILVA P.C.R.A. ET CARVALHO G.S., 2003** - Leaf mesophyll consumption by *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (*Lepidoptera: Gelechiidae*) in three cultivars of *Lycopersicon esculentum* Mill , *Ciencia rural, Santa Maria*, 23(1), pp : 7-11.
- 15 **PIRES D.S.L.M., 2008** - Effects of the fungi *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. and *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL on *Tuta absoluta* (MEYRICK) and their compatibility with insecticides. Thèse de doct. da Universidade Federal Rural de pernambuco, 72 p.
- 16 **OLIVEIRA C.R.F., CYSNEIROS M .C .H. ET HATANO EDUARDO., 2007** - Occurrence of *Pyemotes* sp. on *Tuta absoluta* (Meyrick) , *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(6), pp: 929-932.
- 17 **PRATISSOLI D. ET PARRA J.R.P., 2000** - Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym: Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* and *Phthorimaea operculella* (*Lepidoptera: Gelechiidae*) at different temperatures, *Appl.Ent*, 124, pp: 339-342.
- 18 **ANONYME., 2007** - Données de la base statistique de l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. FAO.
- 19 **DORE C. ET VAROQUAUX F., 2006** - Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées, *Guae* Eds. 812 p.
- 20 **ANONYME., 2010-** Ministère de l'agriculture et du développement rural. Service statistique.
- 21 **BESRI M., 1991** - *Verticillium* wilt of tomato grown under plastic tunnel in Morocco. *Acta Horticulture (ISHS)* 287, pp: 355-360.

- 22 **LEPOIVRE P., 2003** - Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. les presses agronomiques de Gembloux. De Boek ed 1, Bruxelles, 427 p.
- 23 **EMMET R. M. ET PARBERY D.G., 1975** - Appressoria. *Annu. Rev. phytopathol.* 13, pp: 147-167.
- 24 **HAYWARD A.C., 1991** - Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29. pp: 65-87.
- 25 **DEISING H., NICHOLS R. L., HAUG M., HOWARD D. ET MENEENK J., 1992** - Adhesion pad formation and the involvement of cutinases and esterases in the attachment of urediniospores to the host cuticle. *The Plant Cell* 4, pp: 1101 -1111.
- 26 **WOLFE D., 1987** - Signaling for growth orientation and cell differentiation in *Uromyces*. *Science* 235, pp: 165-216.
- 27 **HUGHES H.C., STMS R.C., WHITEHEAD D.C. OMEAU J. ET WOLFE D., 1987** - Signaling for growth orientation and cell differentiation in *Uromyces*. *Science* 235, pp: 165-216.
- 28 **DEACON J.W., 1997** - modern mycology. basic microbiology, vol. 7, 224 p.
- 29 **SHARMA O.P., 1989** - textbook of fungi. tata mcgraw-hill, 24 p.
- 30 **DEACON J.W., 2006** – fungal biology. Wiley-blackwell, 2 p.
- 31 **LUCAS J. A. ET DICKINSON C.H., 1998** - plant pathology and plant pathogens. basic microbiology, VOL. 6, pp: 20-31.
- 32 **KAVANAGH K., 2005** - Fungi: biology and application. John Wiley and Sons, pp: 219-225.

- 33 **BOUCHET P., 2005** – Les champignons : mycologie fondamentale et appliquée. Elsevier Masson éd. 2, pp : 1-17.
- 34 **CORBAZ R., 1990** – Principales de phytopathologie et lutte contre les maladies des plantes. Collection biologie, PPUR presses polytechniques, 11p.
- 35 **FORDE KOHLER J.L., 1995** - the effects of *ophiostoma piliferum* on the wood pulp: investigations of the impact of *ophiostoma piliferum*. On the strength properties of handsheets. institue on paper scie. and techo., 14 p.
- 36 **MAHESHWARI R., 2005** - fungi: experimental methods in biology.crc press, mycologies series, VOL. 24, pp: 47-65.
- 37 **PEGG G. F. ET BRADY B.L., 2002** – Verticillium wilts. Cabi Publishing Séries, 142 p.
- 38 **SHARMA P.D., 2006** – Plant pathology. Alpha Sciences international, pp: 3-5.
- 39 **BLANCHARD D., 1988.-** Maladies de la tomate : Observer, Identifier, Lutter. INRA, Paris, pp. 174-179.
- 40 **ZITTER A., 2001-** The long list of diseases affecting tomatoes and peppers in a wet growing season. Cornell University. Fiche technique. 6 p.
- 41 **JONES J.B., JONES J.P., STALL R.E., ET ZITTER T.A., 1991** - compendium of tomato diseases. isbn 0-89054-120-5. APS PRESS.100 p.
- 42 **AGRIOS G.N., 2005** - plant pathology. 5th ed. El sevier academic press, usa uk.

- 43 **BECKMAN C.H. ET ROBERTS E.M., 1995** - on the nature genetic basis for resistance tolerance of fungal wilt diseases. *advances in botanical research*, 21, pp: 35-77.
- 44 **STOVER R.H., 1970** - banana root diseases caused by *fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *pseudomonas solanacearum*, *radopholus similis*: a comparative study of life cycles in relation to control. in root diseases soil-borne pathogens, (eds. toussoun, t.a., bega,r.b., nelson, p.e.), university california press, pp: 197-200.
- 45 **PEGG G.F., 1981** -biochemistry and physiology of pathogenesis. in fungal wilt diseases of plants (eds. mace, m.e., bel. l a.a., beckman, c.h.), new york: academic press, pp: 193-253.
- 46 **BARBER C.E., TANG J.L., FENG J.X., PAN M.Q. ET WILSON T.J., 1997** - A novel regulatory system required for pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is mediated by a small diffusible signal molecule. *Mol. Microbiol.* 24, pp: 555-566.
- 47 **CHUN W., CUI J. ET POPLAWSKY A.R., 1997**- Purification, characterization and biological role of a pheromone produced by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 51, pp: 1-14.
- 48 **FLAVIER A.B., CLOUGH S.J., SCHELL M.A. ET DENNY T.P., 1997**- Identification of 3- hydroxypalmitic acid methyl ester as a novel autoregulator controlling virulence in *Ralstonia solanacearum*. *Mol. Microbiol.* 26, pp: 251-259.
- 49 **VAN LAREBEKE N., ENGLER G., HOLSTERS M., VAN DEN ELSACKER S., ZAENEN I., SCHILPERRORT R.A., SCHELL J., 1974**- Large plasmid in *Agrobacterium tumefaciens* essential for Crown Gall-inducing ability. *Nature* 252, pp: 169-170.

- 50 **PORTIER P., 2004** - Sélection d'écotypes bactériens pathogènes et non-pathogènes par la plante en relation avec la différenciation en espèces génomiques chez *Agrobacterium spp.* Thèse Doc. Labo. d'Écolo. Microbienne - Univ. Claude Bernard Lyon 1. 123 p.
- 51 **WEI Z.M., SNEATH B.J. ET BEER S.V., 1992** - Expression of *Erwinia amylovora hrp* genes in response to environmental stimuli. *J Bacteriol* 174, pp: 1875-1882.
- 52 **DESSAUX Y., PETIT A. ET TEMPE J., 1992** - *In: Molecular Signals in Plant Microbe Communications* (Verma, D.P.S. ed.) CRC Press, Boca Raton, pp: 109-136.
- 53 **BOUCHET P.H., GUIGNARD J.L. ET VILLARD J., 1999** - Les champignons, Mycologie fondamentale et appliquée. Éd. Masson, Paris. 194 p.
- 54 **CSIZINSZKY A.A., SCHUTESTER D.J., JONES J.B, et VAN LENTEREN J.C., 2005** - Tomatoes. *In: Crop production science in horticulture*, Ed. Ep Heuvelink, 235 p.
- 55 **DEDRYVER.C.A.RAPPORT C.C.E**
- 56 **GUENAOUI Y., 1988** - Lutte intégrée en cultures protégées; Contribution à l'étude des interactions entre *A. gossypii Glover (HOM: Aphididae)* et son endoparasite *Aphidius colemani Viereck (HYM: Aphididae)* essai sur concombre. Doctorat d'ingénieur en sciences agronomiques: protections des cultures, ENSA de Rennes, 79 p.
- 57 **MEDEIROS M.A., VILELA N.J. ET FRANÇA F.H., 2006** - Technical and economic efficiency of biological control of the South American tomato pinworm in protected environment, *Hortic. Bras*, 24, pp: 180-184.

- 58 **LEDIEU M.S ET HELYER N.L., 1982** -"Effect of tomato leafminer on yield of tomatoes", Annu. Rep. GCRI, Littlehampton, 106 p.
- 59 **WYATT, J.J., ET LEDIEU, M.S., 1984** - Stacey, D.L and White, P.F., "Crop loss due to pests", Annu. Rep. GCRI. Littlehampton, pp: 88-93.
- 60 **JOHSON M.W., WELTER S.C., TOSCANO N.C., TING I.P ET TRUMBLE J.T., 1983** - "Réduction of tomato leaflet photosynthesis rates by mining activity of *Liriomyza sativae* (Dipt. Agromizidae)", Journal, Econ, Entomol, n°76, pp: 1061-1063.
- 61 **PEREIRA DOS S.J., BECKER W.F., WAMSER A.F., MUELLER S. ET ROMANO F., 2008** - Incidence of adult males of tomato moth in conventional and integrated tomato production systems in Caçador , SC: *Agropec.Catarin*, 21 (1), pp: 66-73.
- 62 **PEREIRA G.V.N., 2005** - Selecao para alto teor de Acilaçuceres em genotipos de tomateiro e sua relacao com a resistencia ao acaro vermelho (*Tetranychus evansi*) e a traça (*Tuta absoluta*) . thèse de doctorat, Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas, 82 p.
- 63 **BAHAMONDES L.A. ET MALLEA A.R., 1969** - Biología en Mendoza de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) Povolny (*Lepidoptera - Gelechiidae*), especie nueva para la República Argentina, Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias (*Cuyo*), XV (1), pp: 96-104.
- 64 **GARCÍA M. F. ET ESPUL J. C., 1982** - Bioecología de la Polilla del Tomate (*Scrobipalpula absoluta*) en Mendoza, *RIA*, 17 (2), pp: 135-146.

- 65 **GUEDES R.N.C., PICANCO M.C., MATIOLI A. L. ET ROCHA D. M., 1994** - Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick), (Lepidoptera: Gelechiidae), *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 23 (2), pp: 321-325.
- 66 **PICANÇO M., LEITE G.L.D., GUEDES R.N.C. ET SILVA E.E.A., 1998** - Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing , *Crop Protection*, 17 (5), pp: 447-452.
- 67 **SIQUEIRA H.A.A., GUEDES R.N.C., FRAGOSO D.B. ET L MAGALHAAE S.C., 2001** - Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) , *International Journal of Pest Management*, 47 (4), pp: 247-251.
- 68 **POLOVNY D., 1975** - On three neotropical species of *Gnorimoschemini* (Lepidoptera: Gelechiidae) mining *Solanaceae*, *Acta Universalis Agriculturae*, 23, pp: 379-393.
- 69 **GUELAMALLAH A., 2009** - Contribution à l'étude bioécologique de la mineuse de la tomate *tuta absoluta*(*lepidoptera:Guelechiidae*) dans la région de Mostaganem . mémoire magister, Univ. de Mostaganem.198 p.
- 70 **SOUZA J.C. ET REIS P.R., 1986** - Controle da traça do tomateiro em Minas Gerais , *Pesq.Agropec.Bras*, 21, pp: 343-354.
- 71 **FILHO M.M., VILELA E.F., JHAMB G.N., ATTYGALLEC A., SVATOS A. ET MEINWALD J., 2000** - Initial Studies of Mating Disruption of the Tomato Moth, *Tuta absoluta* (*lepidoptera: Gelechiidae*) Using Synthetic Sex Pheromone; *J. Braz. Chem.Soc*, 11 (6), pp: 621-628.
- 72 **MAGALHAAES S.T.V., JHAM G.N., PICANCO M.C. ET MAGALHAAES G., 2001** - Mortality of second-instar larvae of *Tuta absoluta* produced by the hexane extract of *Lycopersicon hirsutum* f. *Agricultural and Forest Entomology*, 3, pp: 297-303.

- 73 **TORRES J.B., EVANGELISTA W.S.J., BARRAS R. ET GUEDES R.N.C., 2002** - Dispersal of *Podisus nigrispinus* (Het., *Pentatomidae*) nymphs preying on tomato leaf miner: effect of predator release time, density and satiation level , *Appl.Ent*, 126, pp: 326-332.
- 74 **LEITE G.L.D., PICANÇO M., JHAM G.N. ET MARQUINI F., 2003** - Intensity of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Liriomyza* spp. (Diptera: Agromyzidae) attacks on *Lycopersicon esculentum* Mill. Leaves, *Ciênc.Agrotec., Lavras*, 28(1), pp: 42-48.
- 75 **LIETTI M., 2005** - Evaluation de la resistencia a insecticidas en poblaciones Argentinas de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (meyrick, 1917). Universidad Nacional De General San Martin, Argentina, 91p.
- 76 **SUINAGA F.A., CASALI V.W.D., PICANÇO M.C. ET SILVA D.J.H., 2004** - Capacidade combinatória de sete caracteres de resistência de *lycopersicon* spp. à traça do tomateiro. Capacidade combinatória de sete caracteres de resistência de *Lycopersicon* spp. à traça do tomateiro , *horticultura Brasileira*, 22 (2), pp: 243-248.
- 77 **POLOVNY D., 1975** - On three neotropical species of *Gnorimoschemini* (Lepidoptera: Gelechiidae) mining Solanaceae, *Acta Universalis Agriculturae*, 23, pp: 379-393.
- 78 **PICANÇO M., LEITE G.L.D., GUEDES R.N.C. et SILVA E.E.A., 1998** - Yield loss in trellised tomato affectedby insecticidal sprays and plant spacing , *Crop Protection*, 17 (5), pp: 447-452.
- 79 **MALUF W.R., BARBOSA L.V. ET SANTA-CECILIA L.V.C., 1997** - Tridecanone mediated mechanisms of resistance to the South American tomato pinworm *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera-Gelechiidae) in *Lycopersicon* spp , *Euphytica*, 93, pp: 189-194.

- 80 **MAGALHAAES S.T.V., JHAM G.N., PICANCO M.C. et MAGALHAAES G.,** 2001 - Mortality of second-instar larvae of *Tuta absoluta* produced by the hexane extract of *Lycopersicon hirsutum* f. *Agricultural and Forest Entomology*, 3, pp: 297-303.
- 81 **NOTZ A.P., 1992** - Distribution of eggs and larvae of *Scrobipalpula absoluta* in potato plants, *Revista de la Facultad de Agronomia (Maracay)*, 18, pp: 425-432.
- 82 **ANONYME., 2006** - Eppo reporting service-pests and Diseases. EPPO
- 83 **ANONYME., 2007** - Eppo reporting service-pests and Diseases. EPPO.
- 84 **URBANEJA A., VERCHER R., NAVARRO V., PORCUNA J.L. ET GARCIA-MARI F., 2007** - La polilla del tomate, *Tuta absoluta* , *Phytoma.Esp*, 194, pp: 16-22.
- 85 **GUENAOUI Y., 2008** - Nouveau ravageur de la tomate en Algérie, *Phytoma*, N° 617, pp: 18-19.
- 86 **ANONYME., 2008** - Eppo reporting service-pests and Diseases. EPPO.
- 87 **FREDON CORSE., 2008** - *Tuta absoluta* (Meyrick) la mineuse de la tomate, Teghia BP15- 20117 CAURO, 2 p.
- 88 **ANONYME., 2008** - *Tuta absoluta* (Meyrick) la mineuse de la tomate. CORSE
- 89 **ANONYME., 2009** - Eppo reporting service-pests and Diseases. EPPO
- 90 **DESNEUX N., WAJNBERG E., WYCKHUYS K. A.G., BURGI G., ARPAIA S., NAVAREZFERREIRA DE OLIVEIRA C., CYSNEIROS MATOS C. H., HATANO E., 2010** - Occurrence of *Pyemotes* sp. on *Tuta absoluta* (Meyrick). *Brazilian archives of biology and technology*, 50 p.

- 91 **RAMEL J.M. ET OUDARD E., 2008** - *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) éléments de reconnaissance.
- 92 **QUIROZ C., 1976** - Nuevos antecedentes sobre la biología de la polilla del tomate, *Scrobipalpus absoluta*(Meyrick) , *Agricultura Técnica (Chile)*, 36, pp: 82-86.
- 93 **COELHO M. ET FRANÇA F. H., 1987** - Biología, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traçado-tomateiro, *Pesq.Agropec.Bras*, (2), pp: 129-135.
- 94 **BENTANCOURT C.M. ET SCATONI I.B., 1995** - Descripción de los estados de desarrollo de la "polilla del tomate", *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae), *Fac.Agron.Bol.Invest*, 45, 14 p.
- 95 **RÁZURI V. ET VARGAS E., 1975** - Biología y comportamiento de *Scrobipalpus absoluta* Meyrick (Lep.,Gelechiidae) en tomatera. *Revista Peruana de Entomología*, 18, pp: 84-89.
- 96 **Haji F.N.P., Parra J.R.P., Silva J.P. ET Batista J.G., 1988** - Biología da traça do tomateiro sob condições de laboratório. *Pesq.Agropec.Bras., Brasilia*, 23, pp: 107-110.
- 97 **LIETTI M., CARRANCIO L.A., GARDE N. ET GONSEBATT G., 1993** - Evolución poblacional y disposición sobre la planta de *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick) Povolny sobre un cultivo de tomate bajo invernáculo en el área hortícola de Rosario, *Congreso Argentino de Horticultura*, pp: 101-108.
- 98 **UCHOA-FERNANDES M.A., LUCIA T.M.C.D. et ILELA E.F., 1995** - Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpus absoluta* (Meyr.) (Lepidoptera:Gelechiidae) , *An.Soc.Entomol.Brasil*, 24, pp: 159-164.

- 99 **HICKEL E.R. et ILELA E.F., 1991** - Comportamento de chamamento e aspectos do comportamento de acasalamento de *Scrobipalpula absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), sob condições de campo, *An.Soc.Entomol.Brasil*, 20, pp: 173-182.
- 100 **MOUSSA MAHAMAT SALEH Z., 2010** - *Tuta absoluta* ou le « désastre absolu » : perspectives d'évolution à l'échelle géographique et stratégies de lutte. Rapport de stage, AGROCAMPUS OUEST, ANGERS, 58 p.
- 101 **RODRÍGUEZ M.S., GERDING M.P. ET FRANCE A., 2006** - Entomopathogenic fungi isolates selection for egg control of tomato moth, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: gelechiidae) eggs, *Agricultura Tecnica (CHILE)*, 66, pp: 151-158.
- 102 **GUENAOUY Y. ET GHELAMALLAH A., 2008** - *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) nouveau ravageur de la tomate en Algérie premières donnes sur sa biologie en fonction de la température Conference Proceeding
- 103 **VILELA DE RESENDE J.T., 2003** - Resistencia a artropos-pragas, mediada por acilacuceres em tomateiros obtidos do cruzamento interespecifico de *Lycopersicon esculentum* Mil. Lavras Minas Gerais-Brasil Eds. 'TOM-584' *XL.pennellii* 'LA716', 104 p.
- 104 **SILVA S.S., 2008** - Reproductive biology factors influencing the behavioral management of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae); dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola. memoire magister, da universidade Federal Rural de Pernambuco, 75 p.
- 105 **TORRES J.B., FARIA C., EVANGELISTA W.S.J. ET PRATISSOLI D., 2001** - Within-plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immatures in processing tomatoes, with notes on plant phenology , *International Journal of Pest Management*, 47 (3), pp: 173-178.

- 106 **MOLLA O., MONTON H., BEITIA F. et URBANEJA A., 2008** - La pollila del tomate, una nueva plaga invasora, *tuta absoluta* (Meyrick), *S.L.CIF B80194590 Terallia*, 69 p.
- 107 **DAMUS M., 2009** - Plant Health and HBD Request No. 2009-19, Plant Health Risk Assessment, *Tuta absoluta*, South American tomato moth. Plant Health Risk Assessment Univ, *Canadian Food Inspection Agency*, pp: 13-16.
- 108 **ESTAY P., 2001** - *Primer curso "Manejo integrado de plagas y enfermedades en tomate"*, INIA La Platina Eds. Serie actas N° 12, 122 p.
- 109 **LARRAÍN P., 1992** - Plagas en cultivos bajo plástico, *IPA La Platina*, 73, pp: 41-52.
- 110 **METCALF R.L, ET LUCKMAN W.H., 1994** – introduction to insect pest management, 3ed ed. Wiley interscience, new york, 650 p.
- 111 **MATTHEWS G.A., 1992** - pesticide application methods, 2nd edition. Longman scientific and technical, uk, 405 p.
- 112 **LACEY A.J., 1985** - weed control. *In: p.t. haskell (éd.). Pesticide application principles and practice.* Oxford science publications, oxford, pp: 456-485.
- 113 **FAO., 1996** - Besoins alimentaires et croissance démographique - Document d'information technique 4, Sommet mondial de l'alimentation. Rome. 62 p.
- 114 **NOVARTIS, 1997.** *Le livre vert du maïs*, Cb. Novartis, Saint-Sauveur, France, 109 p.
- 115 **ONU., 1996.** Déclaration adoptée par consensus à la Journée des parlementaires. Rapport du Sommet mondial de l'alimentation. Rome, novembre 1996.

- 116 **METCALF R.L., 1980** – changing role of insecticides in crop protection. *Annu.rev. entomol.* 25, pp: 219-256.
- 117 **HISLOP E.C., 1993** - application technology for crop protection: an introduction. *In* matthews g.a.et hislop e.c. (eds). Application technology for crop protection. Cab int., UK. pp: 3-11.
- 118 **METCALF R.L., 1994** – insecticides in pest management. *In* metcalf r.l, et luckman w.h., 1994. introduction to insect pest management, 3ed ed. wiley interscience, new york, 650 p.
- 119 **URECH P.A. 1994** – fungicide resistance management: needs and success factors. *In*: s.heaney et al. (eds) fungicide resistance, bcpc monograph N°60, pp: 349-356.
- 120 **HEAP I.M., 1997**- The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *pestic. sci.*, 51, pp: 235-243.
- 121 **PIMENTEL D., ACQUAY H.A., BILTONEN M., RICE P., SILVA M., NELSON J., LIPNER V., GIORDANO S., HOROWITZ A. ET D'AMORE M., 1992** – environmental and economic costs of pesticides use. *bioscience*, 42 (10), pp: 750-760.
- 122 **BOUGUERRA M.L., 1986** - Les pesticides et le tiers monde. *La Recherche*, n° 176.
- 123 **HARRY, 1993** - Intoxications humaines par produits phytosanitaires. Conférence séminaire européen COMETT, Angers, 11-14 octobre 1993 « Pesticides agricoles et environnement »
- 124 **SILVY C., 1992** - Quantifications... *Info Zoo, Bulletin d'information des zoologistes de l'INRA*, n° 6, pp: 90-103.

- 125 **HOKKANNEN H.M.T. ET LYNCH J.M., 1995** - *biological control, benefits and risks*. Cambridge university press, 304 P.
- 126 **VAN DRIESCHE R.G. ET BELLOWS T.S., 1996** - *biological control*, chapman & hall, new york, 539 p.
- 127 **JERVIS M. ET KIDD N., 1996** - *insect natural enemies, practical approaches to their study and evaluation*. chapman & hall, new york, 491 p.
- 128 **CALTAGIRONE L.E. ET DOUTT R.L., 1989** -the history of the vedalia beetle importation to california and its impact on the development of biological control. *annual review of entomology*, 34, pp: 1-6.
- 129 **GREATHEAD D.J., 1995** - benefits and risks of classical biological control. *in*: h.m.t. hokkanen et j.m. lynch (eds.). *Biological control: benefits and risks*. cambridge university press et ocde, paris, pp: 53-63.
- 130 **CLOUTIER C. ET CLOUTIER C., 1992** - Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. *In* : C. Vincent et D. Coderre (eds.) *La lutte biologique*, Gaëtan Morin (Boucherville, Québec) et Lavoisier Tech Doc (Paris), pp: 19-88.
- 131 **TANADA Y. ET KAYA H.K., 1993** - *insect pathology*. academic press inc., New York, 666 p.
- 132 **VAECK M., HOFTE H., REYNAERTS A., LEEMANS J., MONTAGU M. ET ZABEAU M., 1986** - engineering of insect resistant plants using a *b. thuringiensis* gene. *In*: c.j. antzen et c.a. ryan. *molecular strategies for crop protection*, a dupont-ucla symposium, steamboat springs, co.
- 133 **BERNARD C.B. ET PHILOGENE B.J.R., 1993** - Insecticide synergists : role, importance and perspectives. *J. Toxicol. Env. Health*, 38, pp: 199-223.

- 134 **PEFEROEN M., 1991** - *bacillus thuringiensis* in crop protection. *Agro-industry*, 2(6), pp: 5-9.
- 135 **TABASHNIK B.E., 1994** - evolution of resistance to *bacillus thuringiensis*. *annu. rev. entomol.* 39, pp: 47-79.
- 136 **ADAM A., 2008** – Elicidation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes. Thèse de doctorat. Université de Liège, pp: 1-5.
- 137 **TRIGUI M., BEN HSOUNA A. ET JOUA S., 2008** – Activité antimicrobienne de 2 extraits de plantes tunisiennes envers des bactéries et champignons phytopathogènes. *Biotech 2008*. XI^{es} Journées scientifiques du réseau de l'agence universitaire de Francophonie
- 138 **THAKORE Y., 2006** - the biopesticides market for global agriculture use. *Industrial biotechnology*. 2 (3), pp: 203-294.
- 139 **FRAVEL, D.R., 2005** - commercialization and implementation of biocontrol. *annual review of phytopathology*, 43, pp: 337-359.
- 140 **LOURENCO JUNIOR V., MAFFIA L.A., ROMEIR, R.D.S. ET MIZUBUTI E.S.G., 2006** - biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. *Biol. control*. 38(3), pp: 331-340.
- 141 **JI P., CAMPBELL H.L., KLOPPER J.W., JONES J.B., SUSLOW T.V. ET WILSON M. 2006** - integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *biol. control*. 36(3), pp: 358-367.

- 142 **LEE J.P., LEE S.W., KIM C.S., SO, J.H., SONG J.H., LEE K.Y., KIM H.J., JUNG S.J. ET MOON B.J., 2006** - evaluation of formulations of *bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *botrytis cinerea*. *Biol. Control*. 37(3), pp: 329-337.
- 143 **MINUTO A., SPADARO D., GARIBALDI A. ET GULLINO M.L., 2006** - control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crops protect*. 25(5), pp: 468-475.
- 144 **SARAVANAKUMAR D., VIJAYAKUMAR C., KUMAR, N. ET SAMIYAPPAN R., 2007** - pgpr-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop protects*. 26(4), pp: 556-565.
- 145 **PAULITZ T.C. ET BÉLANGER R.R., 2001** - biological control in greenhouse systems. *annu. rev. phytopathol*. 39, pp: 103-133.
- 146 **LAGUNEZ RIVERA L., 2006** – Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe.
Thèse Doc. en Agroressource. Univ. De Toulouse. 335 p.
- 147 **CLEMENT J.L., 1990** - Les substances naturelles insecticides des plantes : rôles et utilisations dans la lutte contre les ravageurs des cultures. Insecticide natural substances in plants: roles and uses in the control of crop pests.
Ed. CIRAD - Forêt, Montpellier, France. pp: 34-38.
- 148 **SHETTY K. G., SUBBARAO K. V., HUISMAN O. C., AND HUBBARD J. C. 2000.**, - mechanism of broccolimediated verticillium wilt reduction in cauliflower. *phytopathology* 90, pp: 305-310.
- 149 **LAZZERI L., BARUZZI G., MALAGUTI L., ET ANTONIACCI L. 2003** - replaces methyl bromide in annual strawberry production with glucosinolate-containing green manure crops. *Pest management science* 59, pp: 983-990.

- 150 **ARNAULT I., ANDRE I., DIWO S., AUGER J. ET VEY F., 2004** - Possibilité d'utilisation des propriétés pesticides des Alliées : Application a la biodesinfection des sols au moyen d'oignons et de poireaux. Journées Techniques Nationales Fruits et Légumes Biologiques. St Pierre des Corps 8 p.
- 151 **KIM S. W., KUBEC R., ET MUSAH R. A. 2006** - antibacterial and antifungal activity of sulfurcontaining compounds from *petiveria alliacea* l. *journal of ethnopharmacology* 104, pp: 188-192.
- 152 **ISMAIEL A. ET PIERSONM.D., 1990.-** Inhibition of growth and germination of *C. botulinum* 33A, 40B, and 1623E by essential oil of spices. *J. Food Sci.*, **55**, pp: 1676-1678.
- 153 **PASTER N., 1990** - Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.*, **11**, pp: 33-37.
- 154 **MAHMOUD A.L.E., 1994.** - Antifungal action and anti aflatoxic properties of some essential oil constituents. *Lett. Appl. Microbiol.*, **19**, pp : 110-113.
- 155 **ADAM K., 1998.** - Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtus*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1739-1745.
- 156 **BASILICO M.Z. ET BASILICO J.C., 1999.-** Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Lett. Appl. Microbiol.*, **29**, pp: 238-241.
- 157 **COSENTINO S., 1999** - *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.*, **29**, (2), pp: 130-135.

- 158 **COWAN M.M., 1999** - Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, **12**, pp: 564-582.
- 159 **HAMMER K.A., CARSON C.F. ET RILEY T.V., 1999** - Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, **1(86)**, pp: 985-990.
- 160 **MARINO M., BERSANI C. ET COMI G., 1999** - Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *J. Food Prod.*, **62**, pp: 1017-1023.
- 161 **VAN DEN BROUCKE C.O. ET LEMLI J.A., 1981** - Pharmacological and chemical investigation of thyme liquid extracts. *Planta Medica*, **41**, pp: 129-135.
- 162 **PANIZZI L., FLAMINI G., CIONI P.L. ET MORELLI I., 1993** - Composition and antimicrobial activity of essential oils of four mediterranean *Lamiaceae*. *J. Ethnopharmacology*, **39**, pp: 167-170.
- 163 **ISMAN M.B., 2000** - plant essential oils for pest and disease management. *Crop prot.* 19, pp: 603-608.
- 164 **CSEKE, L.J. ET P.B. KAUFMAN., 1999** - how and why these compounds are synthesized by plants. pp: 37-90. *In* p.b. kaufman, l.j. cseke, s. warber, j.a. duke et h.l. brielmann (eds.), natural products from plants. crc press, boca raton, fl.
- 165 **FENG R. ET M.B. ISMAN., 1995** - selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *myzus persicae*. *experientia* 51, pp: 831-833.
- 166 **WEAVER D.K., DUNKEL F.V. NTEZURUBANZA L. JACKSON L.L.ET STOCK D.T., 1991** - the efficacy of linalool, a major componenet of freshly-milled *ocimum canum.sims* (lamiaceae), for protection against postharvest damage by certain stored product coleoptera. *j. stored prod. res.* 27, pp: 213-230.

- 167 **KIM S.J., ROH D., KIM H., LEE E. ET AHN Y., 2003** – insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *sitophilus oryzae* and *callosobruchus chinensis*. J. Stored prod. Res. 39, pp: 293-303.
- 168 **SHAAYA E.U., RAVID N., PASTER B., JUVEN U., ZISMAN ET PISSAREV V.,1991-** fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. J. Chem. Ecol. 17(3), pp: 499-504.
- 169 **DON-PEDRO K.N., 1996** - investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citruspeel oil components. Pestic. Sci. 46, pp: 79-84.
- 170 **REGNAULT-ROGER C. ET HAMRAOUI A., 1995** – fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *acanthoscelides obtectus* (say) (coleoptera), a bruchid of kidney bean (*phaseolus vulgaris* l.). J. Stored prod. Res. 31, pp: 291-299.
- 171 **TAPONDJOU L.A., ADLER C., BOUDA H. ET FONTEM D.A., 2002** - efficacy of powder and essential oil from *chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. J. Stored prod. Res. 38, pp: 395-402.
- 172 **PAPACHRISTOS D.P. ET STAMOPOULOS D.C., 2002** - repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *acanthoscelides obtectus* (say) (coleoptera : bruchidae). J. Stored prod. Res. 38, pp: 117-128.
- 173 **NGOH S.P., CHOO L.E.W., PANG F.Y., HUANG Y., KINI M.R.ET HO S.H., 1998** - insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the american cockroach, *periplaneta americana* (l.). Pestic. Sci. 54, pp: 261-268.
- 174 **CHIASSEON H., BOSTANIAN N. ET VINCENT C., 2004** – acaricidal properties of a *chenopodium*-based biopesticide. J. Econ. Entomol. 97, pp: 1373-1377.

- 175 **CHIASSEON H., VINCENT C. ET BOSTANIAN N., 2004** - insecticidal properties of a *chenopodium*-based biopesticide. J. Econ. Entomol. 97, pp: 1378-1383.
- 176 **COATS J.R., KARR L.L. ET DREWES C.D., 1991** - toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids. Pages 305-316 in p.a. hedin (ed.), naturally occurring pest bioregulators. Acs symposium series. Washington.
- 177 **ISMAN M., 1999** - pesticides based on plant essential oils. Pesticide outlook, April 1999, pp: 68-72.
- 178 **KARPOUHTSIS I., PARDALI E., FEGGOU E., KOKKINI S., SCOURAS S.G. ET MAVRAGANI-TSIPIDOU P., 1998** - insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. J. Agric. Food chem. 46, pp: 1111-1115.
- 179 **LEE S., TSAO B., PETERSON C. ET COATS J.R., 1997** -insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm (*coleoptera: chrysomelidae*), twospotted spider mite (*acari: etranychidae*), and house fly (*diptera: muscidae*). J. Econ. Entomol. 90, pp: 885-892.
- 180 **KARR L.L. ET COATS J.R., 1992** - effects of four monoterpenoids on growth and reproduction of the german cockroach (*blattodea : blattellidae*). J. Econ. Entomol. 85, pp: 424-429.
- 181 **ROEDER T., 1999** - octopamine in invertebrates. Prog. Neurobiol. 59, pp: 533-561.
- 182 **ENAN E., 2001** - insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comp. Biochem. Physiol. Part c 130, pp: 325-337.
- 183 **BOSTANIAN N.J., AKALACH M. ET CHIASSEON H., 2005** - effects of a *chenopodium*-based botanical insecticide/ acaricide on *orius insidiosus* (hemiptera: anthocoridae) and *aphidius colemani* (hymenoptera: braconidae). Pest manag. Sci. 61, pp: 979-984.

- 184 **WIGGLESWORTH V.B., 1972** - the principles of insect physiology, 7e éd. Chapman and hall.
- 185 **VAN ETTEN C. H. ET TOOKEY H. L. 1979** - chemistry and biological effects of glucosinolates. In *herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*, edited by rosenthal, g. A. And janzen, d. H. Academic press. Peoria, usa, pp: 471-500.
- 186 **BONES A.M. ET ROSSITER J.T., 1996** – The myrosinase-glucosinolate system its organisation and biochemistry, *physiol. Plant.* (97), pp: 194-208.
- 187 **BROWN P. D., MORRA M. J., MCCAFREY J. P., AULD, D. L. ET WILLIAMS L. 1991** - allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. *Journal of chemical ecology* 17, pp: 2021-2034.
- 188 **KIRKEGAARD J. A., ET SARWAR M., 1998** - biofumigation potential of brassicas. I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and soil* 201, pp: 71-89.
- 189 **BROWN P.D. ET MORRA M.J., 1997** – Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Adevances in Agronomy*, (61), pp: 167-231.
- 190 **SARWAR M., KIRKEGAARD J.A., WONG P.T.W ET DESMARCHELIER J.M., 1998** – Biofumigation potential of Brassicas- III. In vitro toxicityof isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant Soil*, 201, pp: 103-112.
- 191 **KIRKEGAARD J. A., WONG P. T. W., DESMARCHELIER J. M., ET SARWAR M., 1996** - suppression of soil borne cereal pathogens and inhibition of wheat germination by mustard seed meal. 8th australian agronomy conference, at toowoomba, queensland, australia.

- 192 **SMOLINSKA U., KNUDSEN G. R., MORRA M. J., ET BOREK V., 1997-** inhibitin of *aphanomyces euteiches* f. Sp. *Pisi* by volatiles produced by hydrolysis of *brassica napus* seed meal. *Plant disease* 81, pp: 288-292.
- 193 **ZASADA I. A. ET FERRIS H., 2003 -** sensitivity of *meloidogyne javanica* and *tylenchus semipenetrans* to isothiocyanates in laboratory assays. *Phytopathology* 93, pp: 747-750.
- 194 **ZASADA I.A ET FERRIS H., 2004 –** Nematode suppression with Brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles. *Soil Biol. Biochem.* 36, pp: 1017-1024.
- 195 **SMITH T. K., LUND E.K., CLARKE R.G., BENNETT R.N. ET JOHNSON I.T., 2004 –** Allyl isothiocyanate causes mitotic block, loss of cell adhesion and disrupted cytoskeletal structure in HT-29 cells. *Carcinogenesis*, 25, pp: 1409-1415.
- 196 **MAZZOLA M., GRANATSTEIN D. M., ELFVING D. C. ET MULLINIX K., 2001 -**suppression of specific apple root pathogens by *brassica napus* seed meal amendment regardless of glucosinolate content. *Phytopathology* 91, PP: 673-679.
- 197 **LAZZERI, L., LEONI, O., AND MANICI, L. M. 2004.** Biocidal plant dried pellets for biofumigation. *Industrial crops and products* 20, pp: 59-65.
- 198 **AUGER J. ET THIBOUT E., 2005 -** sulfur compounds derived from *allium* and crucifers and their potential applications in crop protection. In *biopesticides of plant origin*, edited by regnault- roger, c., philogene, b. J. R. And vincent, c. Lavoisier. Paris, france. pp: 69-86.
- 199 **YU J. R., 1999 -** allelopathic suppression of *pseudomonas solanacearum* infection of tomato (*lycopersicon esculentum*) in a tomati-chinese chive (*allium tuberosum*) intercropping system. *Journal of chemical ecology* 25, pp: 2409-2417.

- 200 **MARTIN F. N., 2003.** Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. *Annual review of phytopathology* 41, pp: 325-350.
- 201 **AUGER J., DUGRAVOT S., NAUDIN A., ABO-GHALIA A., PIERRE D. ET THIBOUT E., 2002** - potential of *allium* allelochemicals for safe insect control. *Bulletin oilb/srop* 25, pp: 295-306.
- 202 **LINDSEY K. L. ET VAN STADEN J., 2004** - growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of *allium sativum* and *tulbaghia violacea*. *South african journal of botany* 70, pp: 671-673.
- 203 **FERHOUT H., BOHATIER J. ET GUILLOT J., 1999** - antifungal activity of selected essential oils, cinnamaldehyde and carvacrol against *malasseria furfur* and *candida albicans*. *J. Essent. Oil res.*, 11, pp: 119-129.
- 204 **NERI F., MARI M. ET BRIGATI S., 2006.** Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. *Plant Pathology* 55, pp: 100-105.
- 205 **SEREME P., 1999.** La maladie des tâches brunes du niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] au Burkina Faso : Connaissance des agents pathogènes impliqués et développement des méthodes Effet Inhibiteur *in Vitro* et *in Vivo* de l'extrait de Poudre et de l'huile Essentielle de *Xylopiya Aethiopica* (Dunal) A. Rich. (Annonaceae) sur *Fusarium oxysporum* f. sp *Radicis-lycopersici* (Forl), Champignon Parasite des Cultures de Tomate.
- 206 **REGNAULT-ROGER C., PHILOGENE B.J.R. ET VINCENT C., 2002** - Biopesticides d'origines végétales. Tec et Doc, paris, 15 p.
- 207 **SHISHKOFF N. ET MCGRATH M.T., 2002** - aq10 biofungicide combined with chemical fungicides or addq spray adjuvant for control of cucurbit powdery mildewin detached leaf culture. *Plant dis.* 86, pp: 915-918.

- 208 **LARKIN R.P. AND FRAVEL D.R., 2002** -.effects of varying environmental conditions on biological control of *fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *fusarium* spp. *Phytopathology*. 92(11), pp: 1160–1166.
- 209 **MENDOZA GARCIA R.A., MARTIJN TEN HOOPEN G., KASS D.C.J., SANCHEZGARITA V.A. ET KRAUSS U., 2003** - evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of *rosellinia* root rots in cocoa. *Biol. Control*. 27(2), pp: 210-227.
- 210 **HJELJORD L.G., STENSVAND A. ET TRONSMO A., 2000** - effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *richoderma* products to control *botrytis cinerea* and *mucor piriformis* in greenhouse strawberries. *Biol. Control*. 19(2), PP: 149-160.
- 211 **COLLINS P.D. ET JACOBSEN B.J., 2003** - Optimising a *Bacillus subtilis* isolate for biological control of sugar beet cercospora leaf spot. *Biological Control*, 26, pp: 153-161.
- 212 **BONNEMAIN J-L. ET CHOLLET J-F., 2003** - Biologie et pathologie végétales. L'arsenal phytosanitaire face aux ennemis des plantes. Considérations générales. *C. R. Biologies* 326, pp: 1-7.
- 213 **GRAINGE M. ET AHMED S., 1988** – HANDBOOK OF PLANT WITH PEST CONTROL PROPERTIES. WILEY, NEW YORK.
- 214 **JOHNSON ET BOOTH, 1983** – PLANT PATHOLOGISTS. POCKET BOOK. CMI.
- 215 **SATRANI B., GHANMI M., FARAH A., AAFI A., FOUGRACH H., BOUKHRISS B., BOUSTA D. ET TALBI M., 2007** - Composition chimique et activité anti microbienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, pp: 85-96.

- 217 **CAKIR A.KORDALI S., KILIC H. ET KAYA E., 2005** - antifungal proprieties of essential oil and crude extracts. *Hypericum liarioides* bosse. Biochemical systemic and ecology, 33, pp: 245-256.
- 218 **SHARMA N. et TRIPATHI A., 2006** - Fungitoxicity of the essential oil of *Cinensis citrus* on post-harvest pathogens. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22(6), pp: 587-593.
- 219 **AL-REZA S.M., RAHMAN A., AHMED Y. et KANG S.G., 2010**- Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. Pesticide Biochemistry and Physiology 96, pp: 86-92
- 220 **INOUE S., UCHIDA K., MARUYAMA N., YAMAGUCHI H. ET ABE S., 2006**- A novel method to estimate the contribution of the vapour activity of the essential oil in agar diffusion assay. Jpn. J. Med. Mycol, 4, pp: 91-98.
- 221 **CHUTIA M., DEKA BHUYAN P., PATHAK M.G., SARMA T.C. et BORUAH P., 2009**- Antifungal ion of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. LWT- Food Science and Technology, 42, pp: 777-780.
- 222 **PHILIPPEAU G., 1986** - Comment interpréter les résultats d'une analyse en composantes principales. I.T.C.F., Paris, 63 p.
- 223 **HAMMER O., HARPER D.A.T., et RYAN P. D., 2001** - PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica 4(1), 9 p.
- 224 **ROSENTHAL G. ET BERENBAUM M.R., 1991** - Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites, eds, G. Rosenthal & M. Berenbaum, Academic Press, Vol. 1, New York.

- 225 **DUFFEY S.S. ET STOUT M. J., 1996** - Antinutritive and toxic components of plant defense against insects. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 32, pp: 3-37.
- 226 **FAHEY J.W., ZALCMANN A.T. ET TALATAY P., 2001**- the chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56, pp: 5-51.
- 227 **UTE WITTSTOCK D. KLIEBENSTEIN J., LAMBRIX V., REICHEL T. ET GERSHENZON J., 2003** - « *GLUCOSINOLATE HYDROLYSIS AND ITS IMPACT ON GENERALIST AND SPECIALIST INSECT HERBIVORES* », In *Integrative phytochemistry: from ethnobotany to molecular ecology*, Wittstock et al. Elsevier,
- 228 **PAL VIG A., RAMPAL G., SINGH THIND T., ARORA S., 2009** - « *Bio-protective effects of glucosinolates - A review* », dans *Food science and technology*, vol. 42, pp: 1561-1572.
- 229 **BODNARYK R.P., 1991** - Developmental profile of sinalbin (p-hydroxybenzyl glucosinolate) in mustard seedlings, *Sinapis alba* L., and its relationship to insect resistance. *J Chem Ecol*; 17, pp: 1543-1556.
- 230 **CHEW F.S., 1988** - Searching for defensive chemistry in the Cruciferae, do glucosinolates always control interactions of Cruciferae with their potential herbivores and symbionts? No. In: *Chemical Mediation of Coevolution*, ed, C. Spencer. Academic press, San Diego, pp: 81-112.
- 231 **LOUDA S. ET MOLE S., 1991** - Glucosinolates: Chemistry and ecology. In: *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites*, eds, G. Rosenthal & M. Berenbaum, Academic Press, San Diego, Vol.1. pp: 123-164.
- 232 **LERIN J., 1980** - Influence des substances allélochimiques des crucifères sur les insectes. *Acta OEcologica/OEcol gener* ; 1, pp: 215-35.

- 233 **MACGIBBON D.B., ALLISON R.M., 1968** - Glucosinolate system in the aphid *Brevicoryne brassicae*. *NZJ Sci*; 11, pp: 440-446.
- 234 **CONSTANT N., 2009** - L'utilisation du pyrèthre naturel pour lutter contre la cicadelle de la flavescence dorée en viticulture biologique. AIVB-LR.
- 235 **ANONYME., 2008** - Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW
- 236 **REAU R., BODET J-M. BORDES J-P., DORE TH., ENNAIFAR S., MOUSSART A., NICOLARDOT B., PELLERIN S., PLENCHETTE C., QUINSAC A., SAUSSE C., SEGUIN B. ET TIVOLI B., 2005** - Effets allélopathiques des Brassicacées via leurs actions sur les agents pathogènes telluriques et les mycorhizes : analyse bibliographique. Partie 1.
- 237 **GILBERT M.D. ET WILKINSON C.F., 1975** - An inhibitor of microsomal oxidation from gut tissues of the honey bee, *Apis mellifera*. *Comp. Biochem. Physiol.* 50. B., pp: 613-619.
- 238 **NOBLE-NESBITT J., 1970** - Structural aspects of penetration through insect cuticles. *Pestic. Sci.*
- 239 **PADILLA S., 1995** -The neurotoxicity of cholinesterase inhibiting insecticides: past and present evidence demonstrating persistent effects. *Inhal. Toxicol.* 7. pp: 903- 907.
- 240 **BURT P.E., LORD K.A., FORREST J.M. ET GOODCHILD R.E., 1971** - The spread of topically applied pyrethrin I from the cuticle to the central nervous system of the cockroach *Periplaneta americana*. *Entomol. Exp. Appl.* 14. pp: 255-269.

- 241 **SODERLUND D.M., HESSNEY C.W. ET HELMUTH D.W., 1983** - Pharmacokinetics of cis- and trans- substituted pyrethrinoids in the american cockroach. *Prog. Pestic. Biochem. Toxicol.* 20. pp: 161- 168.
- 242 **PILLING E.D., BROMLEYCHALLENGER K.A.C., WALKER C.H. & JEPSON P.C., 1995** - Mechanism of synergism between the pyrethroid insecticide lambda cyhalothrin and the imidazol fungicid prochloraz, in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pestic. Biochem. Physiol.* 51, pp: 1- 11.
- 243 **SMITH B. J. ET KIRKEGAARD J. A., 2002** - *In vitro* inhibition of soil microorganisms by 2-phenylethyl isothiocyanate. *Plant Pathology* 51, pp: 585-593.
- 244 **TARLE D, DVORZAK I. 1990**- Antimicrobial substances in Flos Calendulae. *Farm Vestn (Ljubljana)* 1989; 40:117–120, zit. nach: *CA* (1990) 112:42317v cited in Blaschek W et al (2006).
- 245 **SENATORE F., 1996** - Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *J. Agric. Food Chem.*, 44, pp: 1327-1332.
- 246 **KOKKINI S., 1997**- Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, 44, pp: 883-886.
- 247 **BOIRA H. ET BLANQUER A., 1998** - Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochem. Syst. Ecol.*, 26, pp: 811-822.
- 248 **RUSSO M., GALLETTI G., BOCCHINI P. ET GARNACINI A., 1998** - Essential oil chemical composition of wildpopulations of Italian origano spice (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* Link): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 46, pp: 3741-3746.

- 249 **THOMPSON J.D, 2003** - Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* CHEMOTYPES. *J. Chem. Ecol.*, 29(4), pp: 859-880.
- 250 **KAROUSOU R., KOUREAS D.N. ET KOKKINI S., 2005** - Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*, 66, pp: 2668-2673.
- 251 **KARMEN V., BOJANA B., VRTACNIK M. ET POHLEVEN F., 2003** - Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 51, pp: 51-59.
- 252 **CRESPO M.E., JIMENEZ J., GOMIS E. ET NAVARRO C., 1990** - Antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus serpylloides* subspecies *gadorensis*. *Microbios*, 61, pp: 181- 184.
- 253 **ARRAS G. ET USAI M., 2001-** Fungitoxic activity of twelve essential oils against four postharvest *Citrus* pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* (L.) oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *J. Food Prot.*, 64, pp: 1025-1029.
- 254 **CHEBLI B., ACHOURI M., IDRISSE HASSANI L.M. ET HMAMOUCHE M., 2003** - Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan *Labiatae* against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *J. Ethnopharmacology*, 89, pp: 165-169.
- 255 **HAMMER K.A., CARSON C.F. ET RILEY T.V., 2003** - Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J. Appl. Microbiol.*, 95, pp: 853-860.

- 256 **PEPELJNJAK S., KOSALEC I., KALODERA Z. ET KUSTRAK D., 2003** - Natural antimycotics from Croatian plants. *In: Rai M.K. & Rai R., eds. Plant-derived antimycotics*. Binghamton, USA: The Haworth Press, pp: 49-81.
- 257 **SCORA K.M. ET SCORA R.W., 1998** - Effect of volatiles on mycelium growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, and *P. ulaiense*. *J. Basic Microbiol.*, 38, pp: 405-413.
- 258 **BOUNATIROU S., 2007** - Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoffm. & Link. *Food Chem.*, 105, pp: 146-155.
- 259 **OMIDBEYGI M., BARZEGAR M., HAMIDI Z., 2007-** Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control* 18, pp: 1518-1523.
- 260 **CRISTANI M., D'ARRIGO M., MANDALARI G., CASTELLI F., SARPIETRO M.G., MICIELI D., 2007-** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: application for their antibacterial activity. *J. Agric Food Chem*, 55, pp: 6300-6308.
- 261 **LUCINI E.I., ZUNINO M.P., LOPEZ M.L., ZYGADLO J.A., 2006-** Effect of monoterpenes on liquid composition and sclerotial development. *J. Phytopat*, 154, pp: 441-446.
- 262 **DINAN L., SAVCHENKO T., WHITING P., 2001** - On the distribution of phytoecdysteroids in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58(8), pp: 1121-1132.
- 263 **FARAG R.S., DAW Z.Y., HEWEDI F.M. ET EL-BAROLY G.S.A., 1989** - Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *J. Food Prot.*, 52, pp: 665-667.

- 264 **CELIMENE C.C., MICALES J.A., FERGE L. ET YOUNG R.A., 1999** - Efficacy of pinosylvins against white-rot and brown-rot fungi. *Holzforschung*, 53, pp: 491-497.
- 265 **JUVEN B.J., KANNER J., SCHVED F. ET WEISSLOVICZ H., 1994** - Factors that can interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl.Bacteriol.*, 76, pp: 626-631.
- 266 **ULTEE A., KETS E.P.W. ET SMID E.J., 1999** - Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, pp: 4606-4610.
- 267 **KNOWLES J.R., ROLLER S., MURRAY D.B. ET NAIDU A.S., 2005** - Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, pp: 797-803.
- 268 **LOPEZ-MALO A., ALZAMORA S.M. ET PALOU E., 2005** - *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *Int. J. Food Microbiol.*, 99, pp: 119-128.
- 269 **DORMAN H.J.D. ET DEANS S.G., 2000** - Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88, pp: 308-316.
- 270 **DIDRY N., DUBREUIL L. ET PINKAS M., 1993** - Antimicrobial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde alone or in combination. *Pharmazie*, 48, pp: 301-304.
- 271 **DEFERERA D.J., ZIOGAS B.N. ET POLISSIOU M.G., 2000** - GCMS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungi toxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.*, 48(6), pp : 2576-2581.

- 272 **EL AJJOURI M., SATRANI B., GHANMI M., AAFI A., FARAH A., RAHOUTI M., AMARTI F., ABERCHANE M., 2008** - Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'oeuvre *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*12, (4), pp: 345-351.
- 273 **VELDHUIZEN, E.J., J.L. TJEERDSMA-VAN BOKHOVEN, C. ZWEIJTZER, S.A. BURT AND H.P. HAAGSMAN, 2006-** Structural requirements for the *Antimicrobial activity* of carvacrol. *J. Agric. Food Chem.*, 54, pp: 1874-1879.
- 274 **TAFIFET L., 2010** - Effet bactéricide fongicide et nématocide un vitro de quatre espèces végétales spontanées. Mém. de Magister, Spécialité : Protection des plantes et environnement. Univ. SAAD DAHLAB de Blida, 164 p.
- 275 **BENAMAROUCHE S., 2010** - Pouvoir biopesticide d'une gamme de plantes spontanées à l'égard d'une collection de champignons. Mém. ING. Univ. SAAD DAHLAB de Blida, 145 p.