

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA
FACULTÉ DES SCIENCES AGRO-VÉTÉRINAIRES ET BIOLOGIQUES
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

**Contribution à l'étude de l'effet saisonnier sur la qualité des huiles
essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis*) : évaluation de
l'activité insecticide sur le puceron vert des *citrus* *Aphis citricola*.**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention
Du diplôme de Master 2 en Sciences de la nature et de la vie
Spécialité : Phytopharmacie appliquée

Présenté par : KARA Chahrazed

Soutenu Juillet 2013

Devant le jury composé de :

M ^r . AROUN M.E.F	M.A.A	U.S.D.B.	Président du jury
M ^r . DJAZOULI Z.E.	M.C.A.	U.S.D.B.	Promoteur
M ^r . MOUSSAOUI K.	Doctorant	U.S.D.B.	Co-Promoteur
M ^m e NEBIH D.	M.C.B.	U.S.D.B.	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012/2013

Remerciements

*Avant toute chose, je remercie **DIEU** le tout puissant, le Clément, le Miséricordieux, qui m'a permis de réaliser ce modeste travail, qui m'a ouvert les portes du savoir et qui m'a donné la force et la volonté de poursuivre mes études.*

Je tien à exprimer ma profonde gratitude et mes vifs remerciements à:

***Dr. DJAZOULI.Z.E** mon promoteur, de m'avoir proposé cet intéressant sujet de fin d'étude ainsi il m'a fait l'honneur de bien vouloir encadrer et diriger ce travail et pour sa compréhension, ses orientations instructives, sa disponibilité tout au long de mon projet qui ont été à la base de la réalisation de ce travail et cela malgré ces nombreuses occupations. Je lui exprime ma connaissance et respectueuse gratitude.*

*Je remercie Monsieur **AROUN.M.E.F** qui ma fait l'honneur de présider ce jury.*

*Merci à mon Co-promoteur Monsieur **MOUSSAOUI .K** pour son aide.*

*Merci à Madame **NEBIH.D** pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce mémoire.*

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Ce travail, et bien au-delà, je le dois à mes très chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots.

Que dieu vous protège et vous garde pour nous.

Je le dédie particulièrement à ma grand-mère et mon grand-père.

A mon aimable frère Adel.

A mon unique et adorable sœur Hadjer.

A mes oncles et tantes.

A tous mes cousins et cousines.

A la famille Benameur qui était pendant ces années là, ma deuxième famille. Merci pour le chaleureux accueil, l'apport, la confiance, l'amour, le respect et l'estime que vous m'avez donné.

A tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.

chahrazed

Contribution à l'étude de l'effet saisonnier sur la qualité des huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis*) : évaluation de l'activité insecticide sur le puceron vert des *citrus Aphis citricola*.

Résumé

En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif et inconsideré de ces insecticides a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cible telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants. Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans la lutte biologique contre les ravageurs des cultures. La présente étude a pour objectifs d'évaluer la capacité biocide de deux huiles essentielles formulées du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur le puceron vert des *Citrus Aphis citricola*.

Les huiles essentielles obtenues de deux saisons à savoir hivernale et printanière, ont montré un effet toxique précoce sur les formes biologiques traitées. Les mêmes résultats nous ont permis de signaler une gradation de l'efficacité croissantes des traitements biologiques allant respectivement de celle de l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière suivi par l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale qui a montré la plus forte efficacité sur l'abondance des populations d'*Aphis citricola*. L'analyse rang/ fréquence montre que toutes les formes biologiques (larves, nymphes, adultes ailés et aptères) présentent une différence d'abondance, avec une perturbation apparente par rapport à la normale.

Mots clés : huiles essentielles, chémotype, effet insecticide, *Aphis citricola*, *Rosmarinus officinalis*, perturbation.

Contribution to the study of the seasonal effect on the quality of essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*): evaluation of the insecticidal activity of the green citrus aphid *Aphis citricola*.

Abstract

Because of its efficiency and its easy and practical application, the use of chemical insecticides is at present the most widely used technique to fight against pests. However, intensive and indiscriminate use of these insecticides has caused contamination of the biosphere and the food chain, eradication of non target species such as beneficial insects and resistant insects. Currently, aromatic plants have considerable thanks to the gradual discovery of the applications of their essential oils in biological control against the pest's asset. This study aims to evaluate the biocide capacity of two essential oils made from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against *Citrus* Green Aphid *Aphis citricola*.

The essential oils obtained from two seasons namely winter and spring, showed an early toxic effect on biological forms processed. The same results have enabled us to report a gradation of increasing the effectiveness of biological treatments ranging respectively from that of the essential oil made from rosemary spring season followed by the essential oil of rosemary formulated winter season showed the highest efficiency on population abundance of *Aphis citricola*. The rank / frequency analysis shows that all life forms (larvae, nymphs, winged and wingless adults) have a difference of abundance, with an apparent perturbation of normal.

Keywords: essential oil, chemotype, insecticide, *Aphis citricola*, *Rosmarinus officinalis*, disturbance.

مساهمة في دراسة تأثير الموسمية على جودة الزيوت الأساسية لنباتة الروزماري (*Rosmarinus officinalis*): تقييم الفعالية على قرمزيات الحمضيات *Aphis citricola*.

ملخص

استخدام المبيدات الحشرية الكيميائية في الوقت الحاضر الأسلوب الأكثر استخداما على نطاق واسع لمكافحة الآفات بسبب كفاءتها وسهولة عملية تطبيقها. ومع ذلك، الاستخدام المكثف والعشوائي لهذه المبيدات الحشرية قد يتسبب في تلوث المحيط الحيوي والسلسلة الغذائية، والقضاء على الأنواع غير المستهدفة مثل الحشرات النافعة وظهور الحشرات المقاومة، النباتات العطرية لها فضل كبير في الاكتشاف التدريجي للتطبيقات من زيوتها الأساسية في مكافحة البيولوجية ضد الآفات. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم قدرة مبيد الأحياء لاثنين من الزيوت العطرية مصنوعة من إكليل الجبل (إكليل الجبل المخزنية) على قرمزيات الحمضيات *Aphis citricola*.

الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من موسمين وهما فصل الشتاء والربيع، أظهرت تأثير سام في وقت مبكر على مختلف الأشكال البيولوجية المعالجة، نفس النتائج بينت أن الزيت الأساسي لفصل الشتاء اعلى كفاءة على وفرة *Aphis citricola* مقارنة مع الزيت الأساسي لإكليل الجبل في فصل الربيع. يبين التحليل رتبة / تردد أن جميع أشكال الحياة (اليرقات، الحوريات، مجنح والكبار مجنح) لديها اختلاف في الوفرة، مع اضطراب واضح عن العادي.

كلمات البحث : الزيوت الأساسية، chemotype، الحشرات، *Aphis citricola*، إكليل الجبل المخزنية، اضطراب.

Sommaire

REMERCIEMENTS.....	
DEDICACES.....	
RESUME.....	
OBSTRACT.....	
ملخص.....	
SOMMAIRE.....	
LISTE DES SYMBOLES ET D'ABREVIATIONS.....	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....	
INTRODUCTION GENERALE.....	01
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1. Présentation des agrumes et état phytosanitaire.....	02
I.2. Données sur les huiles essentielles.....	07
I.3. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	14
I.4. Présentation du romarin officinale <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES	
II.1. Présentation de la région d'étude.....	23
II.2. Climat de la région d'étude.....	24
II.3. Synthèse climatique de la région d'étude.....	24
II.4. Présentation du site d'étude.....	26
II.5. Matériel biologique.....	26
II.6. Extraction des huiles essentielles.....	28
II.7. Produits phytosanitaires utilisés.....	29
II.8. Méthodes d'étude.....	29
CHAPITRE III : RESULTATS	
III.1. Evaluation de l'effet biocide de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance et la structure des populations d' <i>Aphis citricola</i>	34
III.2. Estimation de l'efficacité de différentes huiles essentielles du romarin sur les populations résiduelles d' <i>Aphis citricola</i>	42
III.3. Estimation de la stabilité populationnelle d' <i>Aphis citricola</i> sous l'effet de différentes huiles essentielles du romarin.....	45
CHAPITRE IV : DISCUSSION GENERALE.....	48
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	
ANNEXE.....	
TABLE DES MATIERES.....	

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	Répartition des vergers agrumicoles Algériens.....	03
Figure 2:	Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d' <i>Origanum vulgare</i>	09
Figure 3:	Schéma du principe de la technique de l'entraînement à vapeur...	13
Figure 4:	Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.....	13
Figure5:	Aspects morphologiques du romarin.....	19
Figure 6 :	Localisation géographique de la plaine de la Mitidja.....	23
Figure 7 :	Localisation de la région de Blida «Soumâa » dans le Climagramme d'Emberger.....	25
Figure 8:	présentation du site d'étude.....	26
Figure 9:	<i>Aphis citricola</i> GX80.....	27
Figure10:	<i>Rosmarinus officinalis</i>	27
Figure 11:	Les huiles essentielles obtenues.....	28
Figure 12:	Huiles essentielles formulées.....	29
Figure 13 :	Schéma représentant le choix des blocs dans la parcelle.....	30
Figure14:	Schéma récapitulatif du suivi de l'étude.....	31
Figure15:	Evolution temporelle de l'abondance des populations d' <i>Aphis citricola</i> sous l'effet des huiles essentielles du romarin de deux saisons (hivernale et printanière) par rapport au témoin.....	35
Figure 16 :	Projection de l'abondance des populations d' <i>Aphis citricola</i> sur les deux axes de l'A.C.P.....	38
Figure 17 :	Effets comparés de l'efficacité des huiles essentielles formulées du romarin sur l'abondance des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i>	40
Figure 18:	Abondance comparée des populations d' <i>Aphis citricola</i> selon la période et le traitement.....	41
Figure19:	Evolution temporelle des populations résiduelles d' <i>Aphis citricola</i> sous l'effet des huiles essentielles formulées du romarin de deux	

	saisons différents (hivernale et printanière).....	43
Figure20:	Projection des populations résiduelles d' <i>Aphis citricola</i> sur les deux axes de l'ACP.....	44
Figure 21:	Efficacité comparée des traitements biologiques Sur les populations d' <i>Aphis citricola</i>	46
Figure 22:	Diagrammes Rang/Fréquence des formes biologiques sous l'effet des huiles essentielles.....	47

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:	Composition de l'huile essentielle de romarin.....	21
Tableau 2 :	Evaluation de la toxicité de différentes huiles essentielles formulées du romarin sur l'abondance globale des populations d' <i>Aphis citricola</i>	34
Tableau 3:	Evaluation de la toxicité de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance larvaire d' <i>Aphis citricola</i>	36
Tableau 4 :	Evaluation de la toxicité de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance des adultes d' <i>Aphis citricola</i>	36

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Km :	kilomètre
Ha :	hectare
ml :	millilitre
N :	nombre
Q2 :	Coefficient pluviométrique
mm :	millimètre
g :	gramme
P.R :	population résiduelle
°C :	degré Celsius
% :	pourcentage.
G.L.M :	modèle linéaire global
HE :	huile essentielle

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La culture d'agrumes est soumise cependant à la pression d'une multitude de bioagresseurs (champignons, bactéries, virus, nématodes et insectes) pouvant soit occasionner des pertes sévères en rendement, soit altérer la qualité des productions ou des plants qui se traduisent par un déclassement, voire une non commercialisation.

La présence de pucerons sur les agrumes est un problème fréquent. Les pucerons sont présents sur les vergers d'agrumes durant les trois grandes phases de croissance végétative. Ils peuvent se trouver sur tous les organes, mais les colonies les plus importantes sont observées sur les jeunes pousses et leur feuillage. Les pucerons affaiblissent la plante en prélevant la sève et peuvent provoquer des maladies car ils sont vecteurs de virus. De plus, ils déprécient indirectement à travers l'installation des fumagines, la qualité commerciale des fruits (Bellabas, 2010).

Depuis longtemps, la lutte contre les ennemis des cultures est basée sur l'utilisation des pesticides de synthèse. L'usage de ces pesticides chimiques a souvent causé un accroissement de la résistance des insectes, la disparition des populations d'insectes non cibles, la neutralisation de la vie du sol et la pollution des eaux de surface et des nappes phréatiques (Chandrashekar et Srinivasa , 2003 ; Ouedraogo, 2004 ; Camara, 2009).

L'Afrique utilise moins de 10% de la production mondiale de pesticides mais totalise 75% des cas de mortalité humaine dus à ces substances chimiques. C'est pourquoi, aujourd'hui, pour des raisons écologiques et économiques, il ya nécessité de développer des méthodes de substitution aux pesticides de synthèse dans la protection des cultures et des récoltes. Parmi ces méthodes, les biopesticides occupent une place de choix (Bambara et Tiemtore., 2008).

Les substances d'origine végétale, en particulier les huiles essentielles, sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre de ravageurs phytophages. (Cseke et al., 1999 ., Chiasson et Beloin, 2007).

C'est dans cette option que s'inscrit notre travail, en effet, nous nous somme proposés dans la présente étude de tester dans les conditions naturelles, la toxicité comparée d'un bioproduit formulé à base d'huile essentielle saisonnière du romarin *Rosmarinus officinalis* sur l'abondance et la structuration populationnelle du puceron vert des *Citrus Aphis citricola*.

CHAPITRE I :

SYNTHESE BLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Présentation des agrumes et état phytosanitaire

I. 1.1. Définition

D'après Loussert (1989), le mot « agrumes » d'origine italienne, est un mot collectif masculin pluriel qui désigne les fruits comestibles par extension aux arbres qui les portent appartenant au genre « *Citrus* ». Les principaux agrumes cultivés pour la production de fruit sont : les orangers, les mandariniers, les clémentiniers, les citronniers, et les pomelos. Le terme général orangeries désigne non seulement les plantations d'orangers mais, par extension toute plantation d'agrumes constituant le verger agrumicole (Medjedoub, 1996).

I.1. 2. Classification

D'après Guignard (2001), la position systématique des agrumes est comme suite :

Règne : Végétal.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicotylédones.

Ordre : Rutales.

Sous- classe : Rosidées.

Famille : Rutaceae.

Genres : *Poncirus*, *Fortunella*, et *Citrus*.

I.1.3 Importance de l'agrumiculture

I.1.3.1. Dans le monde

La croissance de la production mondiale des agrumes a été relativement linéaire au cours des dernières décennies du XX^{ème} siècle. La production annuelle totale d'agrumes s'est élevée à plus de 100 millions de tonnes sur la période 2009-2010 ; Les oranges constituent la majeure partie de la production d'agrumes avec plus de la moitié (58%) de celle en 2010. Les agrumes occupent les premières places en productions fruitières dans le monde, dont 60% d'Oranges, 18% de Petits agrumes (Mandarines et Clémentines), 11% de Citrons et Limes, et 5% de Pomelos) (Anonyme, 2012).

I.1.3.2. En Algérie

Le verger agrumicole Algérien s'étendait à la fin de l'année 2004, sur une superficie de 59 368 ha, soit 0,7% de la surface agricole utilisée (SAU). La wilaya de Blida domine largement, avec 27% de la superficie totale et réalise une part importante de la production nationale avec un rendement variant de 150 à 170 qx/ha; cette production est orientée, essentiellement, vers la Washington Navel et la Thomson Navel (Anonyme, 2006) (Figure 1).

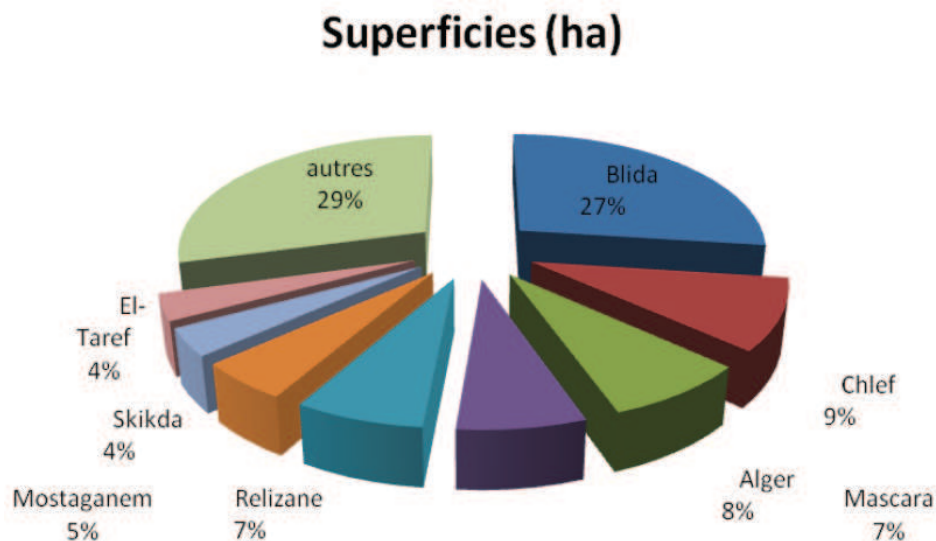


Figure1 : Répartition des vergers agrumicoles Algériens (Anonyme, 2006)

I.1.4. Exigences des agrumes

I.1.4.1. La température

D'après Loussert (1985), les températures moyennes favorables à la culture des *Citrus* sont de l'ordre de 10°C à 12°C en hiver et variant entre 22°C et 24°C pour la période estivale, avec un optimum de végétation oscillant entre 22°C et 26°C. Le même auteur, signale que les basses températures hivernales et printanières, ainsi que les températures dépassant 36°C provoquent un arrêt de végétation. Les oranges offrent une plus ou moins grande résistance au froid selon les variétés. Les citronniers sont plutôt les plus sensibles aux froids hivernaux et printaniers.

I.1.4.2. La pluviométrie

Selon Rebour (1966), et Praloran (1971), que ce soit dans le sud-est asiatique, berceau de l'agrumiculture caractérisé par une pluviométrie qui peut atteindre 1200 mm/an, ou dans la région méditerranéenne dont la pluviométrie annuelle est générale de 600 à 1200 mm, cette quantité d'eau reste toujours au dessous des

exigences de l'agrumiculture, d'où le retour à l'irrigation devient une étape obligatoire. En dépit des quantités globales des pluies, la distribution inégale des précipitations au cours du cycle annuel et l'intensité de l'évapotranspiration potentielle jouent un rôle régulateur des activités biologiques.

I.1.4.3. L'humidité

L'humidité élevée est un facteur non négligeable, qui dans certaines circonstances peut endommager l'arbre et la production et cela en favorisant les attaques des champignons et des ravageurs. Une humidité basse (ou insuffisante) provoque une intense respiration du végétal et ainsi les besoins en eau augmentent (Rebour, 1966., Loussert, 1989).

I.1.4.4. Le sol

L'obtention des bons rendements est fonction en grande partie de la nature du sol, tous les autres facteurs étaient évidemment remplis. La qualité physique du sol est prépondérante, la perméabilité se classe en tête, puisque les sols mal aérés ne permettent pas la plantation d'agrumes en entravant leur développement. Nous savons que les plus beaux vergers sont implantés dans les terres légères à structures convenables (Mutin, 1977).

I.1.5. Phénologie

Le développement de la frondaison des agrumes se fait sous forme de flux végétatif ou poussée foliaire (flush). Ces flux végétatifs succèdent à des périodes d'arrêt végétatif. Ce phénomène s'observe même en climat tropical humide où les conditions permettent une activité végétative continue. Il existe généralement 3 flux végétatifs par an. Ils commencent avec le début des pluies. Le premier flux, qui est de loin le plus important (longueur et nombre de rameaux émis), débute en mars avec le retour des pluies. Le second se fait au mois d'août, il est également déclenché par le retour des pluies. Le dernier survient en octobre (Praloran, 1971).

La floraison se produit en même temps que la pousse qui suit le repos végétatif. Les fleurs sont isolées ou en grappes et se forment sur le bois de l'année précédente (Praloran, 1971 ., Menino *et al.*, 2003). La floraison est continue tout au long de l'année sur les citronniers et limettiers. Sur les autres espèces on peut avoir une ou 2 périodes de floraisons par an. Sur un même arbre, on peut ainsi retrouver des feuilles, des fleurs et des fruits de différents âges (Van Ee, 2005).

I.1.6. Les ravageurs des agrumes

Selon Praloran (1971), le nombre d'espèces animales qui se développent et qui se nourrissent au détriment des agrumes sont extrêm²ement nombreuses et variées,

pour cela nous allons étudier seulement les espèces qui causent d'importants dégâts à ces derniers.

I.1.6.1. Les acariens

Les acariens sont des minuscules araignées, de très petites tailles, ils s'attaquent aux organes verts, détruisent les végétaux et freinent le développement de la végétation jusqu'à entraîner dans certains cas la chute des feuilles, des bourgeons, des fruits et le dépérissement des organes aériens et souterrains (Mouandaza, 1990).

Les espèces nuisibles d'acariens sur les agrumes sont nombreuses; les plus importantes sont l'acarien des bourgeons (*Aceria sheldoni*), l'acarien tisserand (*Tetranychus cinnabarinus*), l'acarien ravisseur (*Hemitarsonemus muslatus*). D'autres espèces sont signalées : *Brevipalpus phoenicis* et *Lorrya formosa*. *Phyllocoptruta oleivora*, le plus important de tous, ne pose pas encore de problème en Afrique du Nord, mais prend de plus en plus d'importance en Grèce, en Turquie et au Moyen-Orient (Anonyme, 2010).

I.1.6.2. Les diptères

Parmi les diptères, deux espèces peuvent être nuisibles aux agrumes. Il s'agit essentiellement de *Ceratitis capitata* et *Ceratitis rosa* (Etienne, 1972). Une seule d'entre elle cause le plus de dégât, *Ceratitis capitata*, appelée communément mouche méditerranéenne. C'est un insecte très polyphage qui cause des dégâts considérables, il hiberne sous forme de pupes dans le sol et évolue en plusieurs générations annuelles (5 à 7 génération en Algérie) (Dridi, 1995). Elle s'attaque aux fruits de divers *Citrus* à savoir : les mandariniers, les pomelos et les orangers, tandis que les citronniers sont pratiquement indemnes (Rebour, 1966).

I.1.6.3. Les cochenilles

Les cochenilles ou coccidés apparaissent comme l'un des problèmes majeurs des *Citrus* (Benassy et Soria, 1964). Selon Praloran (1971), les cochenilles sont les ennemis les plus importants des agrumes tant par les dépréciations qu'elles causent aux fruits que par les affaiblissements qu'elles entraînent sur les arbres où elles pullulent. Les dépréciations d'ordre quantitatif. Ils touchent à la production annuelle ou future des vergers. Ce sont les cas des chutes prématurées des fruits enregistrés au printemps lors des sévères attaques d'*Aonidiella aurantii*, de *Saissetia oleae* ou *Pseudococcus* sp. Cette défoliation est accompagnée d'un dessèchement plus au moins poussée de rameaux et de branches charpentières avec un effet plus lointain, une réduction sensible et plus ou moins rapide de la production au cours des quelques années suivantes.

I.1.6.4. Les Aleurodes

Ce sont de petits homoptères qui se rapprochent beaucoup des cochenilles, surtout par leurs stades larvaires. La famille des aleurodes a de nombreux représentants ; sur agrumes trois espèces ont été principalement dénombrées :

- *Dialeurodes citris* (Ashmead), elle a été signalée depuis 1960 par Piguët. Cette espèce affaiblit l'arbre par son prélèvement continu de sève et le développement associé de la fumagine inféodée aux agrumes en Algérie, d'origine asiatique, elle présente trois générations par an (Boukhalfa et Bonafonte, 1979).

- *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), introduite accidentellement en Algérie. Elle a été signalée pour la première fois dans l'ouest en 1982 (Zeghoud, 1987). C'est un déprédateur très dangereux causant des dégâts très importants. Cette espèce développe quatre générations annuelles en Algérie (Berkani, 1989)

- *Parabemesia myricae* (Kuwana), c'est une espèce très polyphage que l'on peut rencontrer sur un grand nombre de plantes hôtes ligneuses, plus petite que les deux premières et dont les larves produisent un miellat abondant qui tombe sur la face supérieure des feuilles situées sous l'infestation. Elle a été signalée pour la première fois en Algérie en 1990 (Berkani et Dridi, 1992).

I.1.6.5. Les lépidoptères

Abbassi (1996) et Quilici et *al.*, (1995), estiment que les dégâts occasionnés par les lépidoptères peuvent favoriser l'apparition et le développement du Chancré citrique dû à la présence d'une bactérie *Xanthomonas compestris* pv. *citri*. Les mêmes auteurs considèrent que les dégâts sont plus importants sur pomelo et citronnier ensuite viennent les variétés à petits fruits (mandarines) et enfin les variétés d'orangers, la sensibilité serait liée à la taille des feuilles. Deux espèces sont a signalé :

- *Prayscitri*, est un micro-lépidoptère de la famille des *Tortricidae* dont la chenille est nuisible aux fleurs, aux pousses tendres et aux jeunes fruits des divers *Citrus*. Elle provoque des dégâts importants à la production avec une préférence marquée pour le citronnier et le cédratier (Carles, 1984).

- *Phyllocnistis citrella* est un micro-lépidoptère de la famille des *Gracillariidae*. Elle a été signalée au début de l'été 1994 dans les vergers agrumicoles proches du littoral algérien. Les dégâts se manifestent par des galeries sur les feuilles et les bourgeons en croissance. Les feuilles se déforment et s'enroulent et les tissus affectés par la galerie se nécrosent, décollant la partie endommagée et provoquant dans certains cas la chute des feuilles. Les bourgeons attaqués présentent les mêmes symptômes qu'une attaque de puceron (Berkani, 1995).

I.1.6.6. Les pucerons

Les pucerons se caractérisent par leurs apparitions massives sous forme de colonies denses serrées. On les observe le plus souvent sur les feuillages et les jeunes pousses qui s'enroulent. Les pucerons sont connus comme vecteurs de maladies virales. Le verger agrumicole de la Mitidja est infesté par *Toxoptera aurantii*, *Aphis citricola*, *Aphis gossipii*, *Myzus persicae* et *Brachycondus helichrysi*. Seulement les deux premières se montrent particulièrement nuisibles (Aroun, 1985).

Les moyens culturaux permettent de réguler les populations aphidiennes, ainsi la taille sert à l'élimination des foyers d'hivernation des ravageurs, se trouvant sur rameaux, branches et feuilles. En effet, elle permet d'éviter la création d'un microclimat favorable à la population des pucerons. Le brossage des troncs et la pose d'un badigeon à l'argile pendant l'hiver, diminue les risques d'attaque massive, mais pour empêcher les fourmis de provoquer l'extension rapide des colonies, la pose d'un manchon contenant un répulsif sur le tronc des arbres permettra une bonne protection. Aussi le labour augmente la résistance de la plante. En effet, une déficience dans l'aération des racines accroît le niveau des acides aminés des feuilles par conséquent la pullulation du ravageur, en l'occurrence les pucerons (Chaboussou, 1975 et Hammoutene, 2010).

Actuellement, les produits à base de lambda-cyhalothrine, sont utilisés contre les pucerons des feuilles en traitement des parties aériennes. La réalisation de certains traitements ont permis de confirmer les contraintes liées à l'application d'insecticides, notamment les difficultés à atteindre la partie haute des colonies dans les peuplements les plus vieux. Ces suivis ont également permis de mettre en évidence les fortes potentialités de recolonisation de l'insecte, qui est capable en trois à quatre semaines de reconstituer des colonies identiques à ce qu'elles étaient avant le traitement. Une autre voie actuellement envisagée est la formulation de nouveaux insecticides appelés bio-insecticides. Ces derniers sont conçus pour perturber certaines fonctions biochimiques essentielles à la survie de l'insecte ravageur visé. En ciblant des protéines à structure tridimensionnelle particulière et propres à un groupe d'insectes, ils garantissent un haut niveau de sélectivité et, par conséquent, ne présentent que peu ou pas de risque pour la santé humaine, les espèces non ciblées et l'environnement. (Vandermoten et *al.*, 2008)

I.2. Données sur les huiles essentielles

I.2.1. Définition

D'après Bernard et *al.*, (1988), le nom d'essences ou huiles essentielles désigne les principes volatiles généralement odoriférants synthétisés par l'organisme végétal. Ces composés ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses. Par conséquent, ils ont reçu empiriquement le nom d'huile essentielle. Le terme « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le

terme « essentielle » désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons. Conner, (1993) les définit comme suit : « Les HE sont des produits odorants, volatils du métabolisme secondaire d'une plante aromatique, normalement formés dans des cellules spécialisées ou groupes de cellules ».

L'association française de normalisation (AFNOR) définit une huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

I.2.2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Selon Bruneton (1999), les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). On les trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis, Fenouil, Badiane), le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (Belaiche, 1979., Ghestem et *al.*, 2001).

Pour Guignard et *al.*, (1985), il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires telles que les huiles essentielles dans l'organisme végétal. Par contre pour Garneau (2004), la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes (Figure 2). Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe.

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des huiles essentielles sont très diverses: poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolyziques (Aurantiacées), des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées) et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées) (Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999).

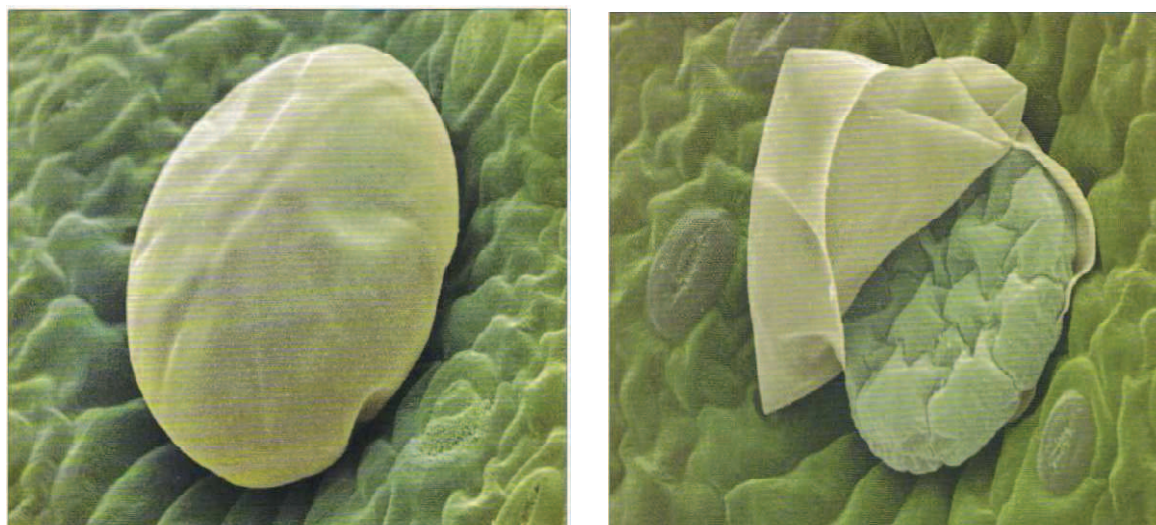


Figure 2 : Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*Origanum vulgare* (Svoboda et al., 2000)

I.2.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai et al., 2003). Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme ou des sous produits de l'activité métabolique d'une plante (Amiot, 2005). Cependant, plusieurs effets apparent utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines par exemple le cinéole et le camphre, libérés dans l'atmosphère par *Salvia leucophylla* sont absorbés par le sol sec, inhibant la germination des espèces prairiales ainsi que la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001; Guignard et Dupont., 2004).

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation. D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement (Bruneton, 1999 ; Guignard, 2000). Belaiche (1979), signale que l'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la

température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

Les essences pourraient constituer des supports à une communication et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de messages biologiques sélectifs (Bruneton, 1999), tandis que Guignard et *al.*, (1985) considèrent l'huile comme une source énergétique : « mis en réserve pendant le jour, ils seraient dégradés durant la nuit en acétyl CoA ».

I.2.4. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle (Abou Zeid, 2000).

Selon Ghestem et *al.*, (2001), La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles essentielles de Safran, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite « eau distillée florale ». Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques.

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (Duraffourd et *al.*, 1990).

I.2.5. Composition chimique

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

I.2.5.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes,

formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$). Les tétraterpènes huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les polyterpènes (C_5H_8) n ou n peut-être de 9 à 30 (Hernandez-Ochoa, 2005).

1.2.5.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les H.Es d'*Apiaceae* (anis, fenouil, cannelle, basilic) (Croteau *et al.*, 2000).

1.2.5.3. Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et α -linoléique en (3-cis hexanol, decanal, β -ionone) (Piochon, 2008).

1.2.5.4. Notion de chémotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'H.E. C'est l'élément qui permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

1.2.6. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories :

1.2.6.1. Les facteurs intrinsèques

Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. Les travaux de Maffei et Sacco (1997), ont

montré des différences de composition des huiles essentielles en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et de sous-espèces différentes. Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plantes de *Lavandula* obtenus par clonage (Fantino, 1990).

I.2.6.2. Les facteurs extrinsèques

Huang *et al.*, (1995), ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Fantino (1990), a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition. Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles.

I.2.7. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Les interactions de ces produits avec les médicaments sont aussi peu mentionnées (Pibiri, 2006). Cependant quelques informations sur certaines toxicités sont décrites par la littérature: En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL₅₀ supérieures à 5g/kg. (Bruneton, 1993).

Certains auteurs (Franchomme *et al.*, 1990 ; Mailhebiau, 1994) se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxique selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (Inouye, 2003).

I.2.8. Méthodes d'extraction

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique (Garnero, 1977). Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants.

I.2.8.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés

volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (Richard et Peyron, 1992) (figure 3).

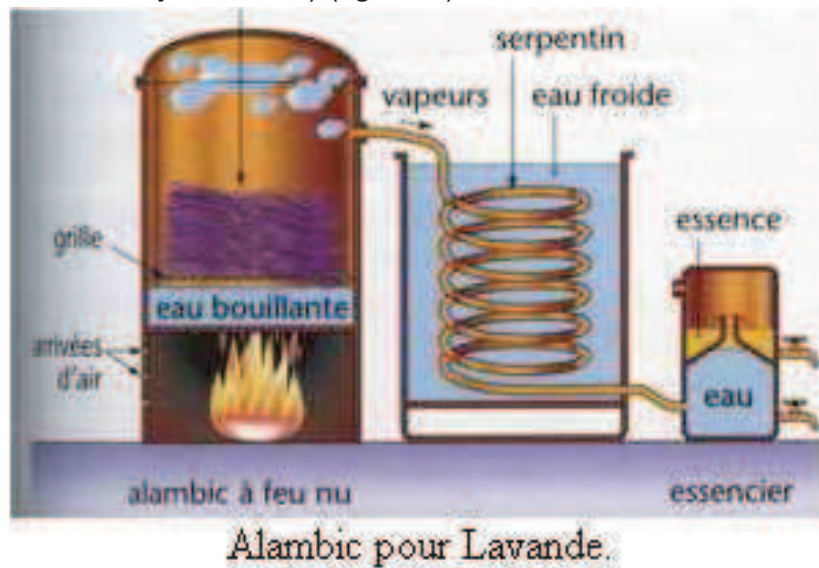


Figure 3: Schéma du principe de la technique de l'entraînement à vapeur (Lucchesi, 2005).

I.2.8.2. Extraction par hydro distillation d'huile essentielle

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (Bruneton, 1993) (figure 4).

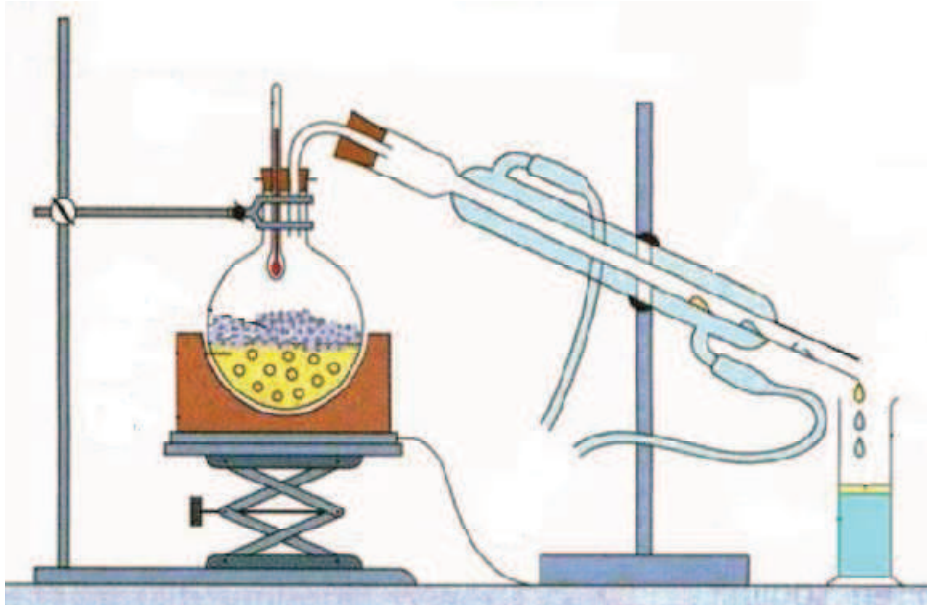


Figure 4: Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

I.2.8.3. Expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices (Basil *et al.*, 1998).

I.2.8.4. Extraction assistée par micro-ondes

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

I.2.8.5. Extraction par les solvants et les graisses

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole etc.), mais aussi de graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par les corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu », et sa composition se rapproche de celle d'une H.E. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose de problème de toxicité et de solvants résiduels (Hernandez-Ochoa, 2005).

I.3 Domaines d'utilisation des huiles essentielles

L'application des huiles essentielles dans différents domaines autres que l'agriculture est très connue et très répandue. Ainsi, leur utilisation en pharmacologie, dans le domaine vétérinaire, en médecine, en cosmétique a fait l'objet de nombreuses recherches (Schauenberg, 2006).

Dans le domaine agroalimentaire nous avons : la menthe, le thym, l'origan, le romarin et le laurier qui sont très utilisés comme condiments, aromatisants et antioxydants retardant l'altération des aliments grâce aux: composés phénoliques, l'acide rosmarinique et le carvacrole respectivement présents dans le romarin et l'origan (Bruneton, 2005; Djenane *et al.*, 2006; Koth, 2007 ; Bakkali *et al.*, 2008).

I.3.1. Activité insecticide

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, par ingestion et par fumigation a été bien démontré. Contre les déprédateurs des denrées entreposées, plusieurs études ont été réalisées sur l'efficacité des huiles essentielles. El-Nahl et al., (1989), avaient testé l'effet toxique des vapeurs de l'huile essentielle d'*Acorus calamus* L. de l'Inde, ils avaient trouvé que *Callosobruchus chinensis* L. était le plus sensible suivi de *Sitophilus granarius* L., *Sitophilus orysae* L., *Tribolium confusum* et *Rhyzopertha dominica* F. Dans cette expérimentation, le facteur influençant sur l'efficacité des vapeurs était la durée d'exposition au film toxique.

Contre la bruche *Acanthoscelides obtectus* d'autres essais ont été entrepris, parmi 22 huiles essentielles celle de *Thymus serpyllum* (riche en phénols : thymol et carvacrol) et *Origanum majorana* (riche en terpinen-4-ol) étaient les plus efficaces (Regnault-Roger et al., 1995).

Les huiles essentielles des plantes appartenant aux genres *Chenopodium*, *Eucalyptus*, ont témoigné de leur efficacité insecticide, la poudre de *Chenopodium ambrosioides* était testée sur six ravageurs de denrées stockées (*Callosobruchus maculatus*, *Callosobruchus chinensis*, *Acanthoscelides obtectus*, *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais* et *Prostephanus truncatus*) une concentration de 0,4% provoqua la mortalité de plus de 60% des bruches après deux jours de traitements (Tapondjou et al., 2002).

En 2003, Tapondjou al., montrèrent l'efficacité de l'huile essentielle de la même plante, en plus de celle d'*Eucalyptus saligna* sur *Callosobruchus maculatus*, et *Callosobruchus ambrosioides*. Ces deux huiles exercent également un effet répulsif sur le bruche de niébé.

En Algérie, des travaux ayant le même axe de recherche ont été entrepris. En 2001, Kechout avait testé l'efficacité de l'huile essentielle du Thym sur *Sitophilus orysae* L., traduite par un taux de mortalité évalué à 85%. Sur *Rhyzopertha dominica* (*Fabricus*), des essais sur l'efficacité des huiles essentielles de romarin et de thym, par contact et par inhalation, ont encore prouvé l'effet insecticide de ces deux huiles. En effet, le romarin s'est montré efficace par contact à la dose de 1,384 mg/cm² en provoquant 89,72% de mortalité alors que le thym à la même dose donna un taux de 100%. Par inhalation, les enregistrements des mortalités ont dévoilé l'efficacité du thym qui dépassait celle du romarin : 40,93% contre 38,92% à la plus forte dose 1,44 mg/cm³. Les essais ont également montré que la répulsivité du thym est plus importante que celle du romarin, elle est estimée à +50% et +46,66% respectivement (El Guedoui, 2003).

En agriculture, les huiles essentielles se sont montrées efficaces contre les ravageurs des cultures. En effet, des études récentes ont mis en évidence l'efficacité par fumigation des essences du cumin (*Cuminum cyminum*), de l'anis (*Pinpinella ansium*), de l'origan (*Origanum syriacum* var. *Bevanii*) et d'*Eucalyptus camaldulensis* sur le puceron du Cotton *Aphis gossypii* et l'araignée rouge *Tetranychus cinnabarinus*. (Tuni et Sahinkaya, 1998). Lee et al., (1997) travaillèrent sur la toxicité d'une gamme de composants des huiles essentielles sur le chrysomèle des racines de maïs *Diabrotica virgifera* et *Tetranychus cinnabarinus*. Plus récemment ils ont obtenu de bons résultats sur l'effet par ingestion d'un certain nombre de monoterpènes sur la pyrale de maïs *Ostrinia nubilalis* ont été relevé (Lee et al., 1999).

En plus des insectes d'intérêt agricole, d'autres d'hygiène publique font partie de la liste. En effet, les H.E appliquées par contact sur la blatte américaine *Periplaneta americana*, la blatte germanique *Blattella germanica* et la mouche domestique *Musca domestica* ont provoqué des renversements sur le dos et des létalités significatifs. Une émulsion constituée d'un mélange d'eugénol, de thymol et de phenethylpropionate comme matières actives, s'est révélée avoir en plus de l'effet toxique vis-à-vis du puceron vert du pêcher, un effet sur son comportement alimentaire (Ngoh et al., 1998, Rice et Coats, 1994, Coats et al., 1991).

I.3.2 Activité acaricide

Phytophages ou ectoparasites, les acariens ont été la cible de plusieurs essais testant l'efficacité des huiles essentielles pour une éventuelle utilisation dans la lutte contre ces déprédateurs. Contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles, plusieurs travaux ont été menés sur l'effet toxique de certaines essences et de leurs composants (Calderone et al., 1997). Parmi ces derniers, c'est le thymol qui a engendré le meilleur résultat, en addition, il a été démontré que le traitement répétitif en dehors de la période de miellée n'augmente pas les résidus dans le miel et reste sous le seuil de détection gustative qui se situe entre 1,1 et 1,6 mg/kg alors que pendant la période de miellée, les résidus du thymol peuvent modifier le goût du miel, seulement, une concentration allant jusqu'à 50 mg/Kg est tolérée par la FAO et reconnue sans danger puisque tout comme le menthol et le camphre, le thymol a le statut GRAS (Generally reconized as safe). Il a été prouvé jusqu'à présent qu'un seul traitement à base d'huile essentielle ou d'un composé est généralement suffisant pour maintenir la population de l'acarien *Varroa* au dessous du seuil de dégât économique pendant toute la saison (Imdorf et al., 1999).

Dans la préservation des denrées stockées contre les attaques des acariens des tests sur l'efficacité des huiles essentielles ont été réalisées dans ce sens, Sanchez-Ramos et al., en 2000 avaient travaillé sur 13 monoterpènes parmi lesquels

les fumigations du pulegone, linalool, fenchone, menthone, γ -terpinène et δ -terpinène s'étaient avérées en possession d'un grand effet adulticide et larvicide contre *Tyrophagus putrescentiae* (Schan K). De ces sept composés, pulegone, le menthone, le linalool, et le fenchone provoquaient 90% de mortalité à une concentration de 14 μ l/l au moins.

Dans le domaine vétérinaire, des expérimentations ont dévoilé le grand effet acaricide des huiles essentielles. En 2002, Chagas et al., avaient testé l'action des essences d'*Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus stageriana* sur la tique du bétail *Boophilus microplus*, les résultats obtenus étaient hautement significatifs puisque ces essences s'étaient montrées toxiques.

Tedonkeng et al., en 2004, avaient étudié la composition chimique et l'action acaricide des huiles essentielles issues des feuilles de *Chromolaena odorata* et *Eucalyptus saligna* sur la tique de la chèvre naine de Guinée *Rhipicephalus lunulatus* (Neumann) dans ces essais, l'augmentation des doses engendrait celle des mortalités estimées à la plus faible dose (0,08 ml/cm²) à 60% pour *Eucalyptus saligna* et 77,5% pour *Chromolaena odorata* après huit jours d'exposition au traitement.

Chiasson et al., en 2001, avaient testé les propriétés acaricides de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* (Armoise) et *Tanacetum vulgare* sur *Tetranychus urticae* obtenues par entraînement à la vapeur, les taux de mortalités étaient significatifs : à la plus faible dose (1%), *A. absinthium* provoqua 42,1% alors qu' *T. vulgare* engendra 52,9%, un taux qui s'élève à chaque fois qu'on augmente la dose.

En Algérie, Chouat en 2004 réalisa des tests sur l'efficacité des huiles essentielles d'*Artemisia alba* (Armoise blanche) et de l'*Origanum glandulosum* (Origan) sur les formes mobiles et les œufs de *Tetranychus cinnabarinus*. Les résultats étaient significatifs pour les deux stades, le test sur les formes mobiles arrêta 0,25% la dose la plus faible qui donna des mortalités de 61,11% et 73,62% pour l'Armoise blanche et l'Origan respectivement. Alors que pour les œufs, la létalité de la même dose fut traduite par un taux d'œufs non éclos de 77,27% pour l'Armoise blanche et 69,54% dans le cas de l'Origan.

I.3.3. Sites d'action des huiles essentielles

L'efficacité des huiles essentielles évoqua chez les chercheurs la curiosité de connaître leur site d'action chez les insectes pour mieux cibler leur but ; dans ce sens, des expérimentations ont montré que les monoterpènes chez la blatte inhibent la cholinestérase, les groupements soufrés agissent sur les canaux à potassium (Isman et al., 2001). Le travail d'Enan et al., (1998), sur la blatte américaine prouva la neurotoxicité des huiles essentielles par leur interférence avec les transmetteurs de l'octopamine chez les arthropodes. La combinaison 3H-octopamine était

significativement affectée par la présence des huiles essentielles. Le manque des transmetteurs d'octopamine chez les vertébrés fait que les mammifères aient une profonde sélectivité aux huiles essentielles en tant qu'insecticide, de ce fait, le système octopamenergique chez les insectes représente une cible importante pour le contrôle des insectes.

I.3.4. Activité fongicide et bactéricide

L'investissement dans l'étude de l'activité fongicide et bactéricide des huiles essentielles et de leurs constituants prés date celui de la découverte de leur propriété insecticide. Singh *et al.*, en 1980, projeta la lumière sur l'effet fongicide de cinq huiles essentielles sur 22 espèces de champignons parasitant aussi bien les plantes que les humains. Une année plus tard, Kurita *et al.*, détectèrent 40 composants ayant un effet contre les spores de 7 espèces de champignons alimentaires. En 1997, Wilson *et al.*, dévoilèrent l'efficacité de 49 huiles essentielles sur *Botrytis cinerea*.

En 2002, Belghazi *et al.*, avaient testé l'effet antifongique de la menthe pouliot sur deux organismes *Pinicilium* et *Mucor*. Les résultats avaient indiqué que la quantité minimale inhibitrice pour les deux souches est de 20%.

En 2003, Defeo *et al.*, avaient étudié la composition chimique de l'huile essentielle du thym (*Thymus spinulosus*) et réalisé des tests biologiques sur son activité antibactérienne contre 8 souches de bactérie dont 4 gram⁺ et 4 gram⁻, qui s'est exprimé par l'inhibition de la croissance de ces dernières à une concentration de 10 mg/ml. Les études ont montré que l'activité fongicide des huiles essentielles est fortement liée aux monoterpènes et plus précisément aux phénols à citer le thymol, le carvacrol et l'eugénol. Responsables également des propriétés antibactériennes, en addition les monoterphénol comme le géraniol, linalool, citronnelle, thjanol, terpinéol et menthol, les aldéhydes manifestent une certaine puissance antibactérienne due au néral, géraniol, citronnellal et cuminal.

I.5. Présentation du romarin officinal *Rosmarinus officinalis*

I.5.1. Etymologie

Le nom latin *rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "ros" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "rhops" arbuste et "myron" baume (Heinrich *et al.*, 2006).

I.5.2. Caractéristiques botaniques

Cette plante appartient à la famille des *Labiées*. Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens (Boullard, 2001). Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée, mesurant environ de 0.8 à 2m de hauteur. Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, friables et coriaces, les fleurs d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007 ; Bekkara *et al.*, 2007) (figure 5)..



Figure 5 : Aspects morphologiques du romarin (Site web : www.Wikipedia).

I.5.3. Habitat et culture

Le romarin est cultivé en méditerranée ; dans des sols drainés, au soleil (Bremness, 2002).

I.5.4. Domaine d'utilisation de la plante

Les anthropologues et les archéologues ont découvert que le romarin a été employé comme vertus médicinales, culinaires et cosmétiques en Egypte, Mesopotamia, Chine et en Inde antiques (Stefanovits-Banyai *et al.*, 2003).

I.5.4.1. Industrie agro-alimentaire

Les extraits végétaux de *Romarin* présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques (Leung et Foster, 1996 ; Ozcan, 1999). Ces propriétés sont dues aux acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique) (Piozzi, 1996 ; Ozcan, 1999).

Des infusions, des poudre, extraits sec ou autres préparations galéniques pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac (Piozzi, 1994 ; Leung et Foster, 1996).

I.5.4.2. Industrie cosmétique et parfumerie

Au 19^{ème} siècle l'essence de *Romarin* servait à la préparation de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui elle rentre dans la composition, de savonnerie, détergents, crèmes et la plupart des eaux de Cologne; le taux d'utilisation maximum est rapporté à 1% dans la dernière catégorie (Leung et Foster, 1996).

I.5.4.3. La thérapie

Le *Romarin* était déjà cité en médecine arabe classique pour ses propriétés hépatotrope, diurétique et emménagogue qui sont dues aux présences des flavonoïdes à savoir des glucosides de la lutoline, de l'apigénone, et peut être de méthyl-4'-genkwanine en synergie avec les acides phénoliques (Piozzi ,1994 ; Piozzi ,1996).

Les feuilles de *Romarin* sont utilisées dans la phytothérapie européenne pour les brûlures d'estomacs et thérapie d'appui, des maladies rhumatismales ; en usage externe pour les problèmes de circulation ; en bains, l'herbe est utilisé comme stimulant externe pour l'accroissement sanguin fourni à la peau. C'est aussi un bon excitant de cuir chevelu (Leung et Foster, 1996).

Les effets cholagogue (faciliter l'évacuation de la bile vers) et cholérétique (augmenter la sécrétion de la bile) du *Romarin* semblent en relation avec la présence de nombreux acides phénoliques signalés dans beaucoup de labiées, et qui sont ici les acides : caféique, chlorogénique, néochlorogénique, reosmarinique, ce dernier, de saveur astringente, consistant en un depside caféique et dihydrocaféique (Piozzi ,1994., Leung et Foster, 1996 ., Deans et al ; 1998).

Les diterpènes phénoliques présentant dans le *Romarin* tels que l'acide carnosique et le carnosol ont des effets d'inhibition contre des virus de HIV-1 (Paris et al., 1993). Et certains cancers et d'autre entrants dans cette fraction ont un effet

carcinologique (Schwarz et Ternes 1992 ; Leung et Foster, 1996 ; Deans et *al.*, 1998).

I.5.5. Composition chimique de Romarin

Plusieurs travaux de recherche sur la composition chimique de l'huile essentielle de Romarin ont été effectués. D'après la littérature (Lawrence, 1995), les principaux composants sont : 1,8-cinéole, α -pinène, camphre, verbenone, borneol; alors que d'autres, tels que le terpinen-4-ol, α -terpinéol, β -caryophyllène, 3-octanol, acétate de géranyle et acétate de linalyle, sont considérés comme composants secondaires. La composition chimique des extraits dépend largement de l'influence des conditions du mode d'extraction sur l'essence contenue dans la plante. Les extraits ainsi que de nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont constitués principalement de composés terpéniques.

Les terpènes sont très répandus dans la nature et surtout dans les plantes comme constituants des huiles essentielles. Ils sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mevalonique. Suivant le nombre entier d'unités penta carbonées (C_5) n ramifiées, Dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène) (Redder, 1970), la nomenclature utilisée a pour base une unité terpénique en $(C_5H_8)_n$: Hémiterpènes $C_{20}H_{32}$; Diterpènes $(C_{10}H_{16})_n$ Polyterpènes; $C_{10}H_{16}$ Monoterpènes ; $C_{30}H_{48}$ Triterpènes ; $C_{15}H_{24}$ Sesquiterpènes ; $C_{40}H_{64}$ Tétraterpènes.

D'une manière globale, il est assez aléatoire d'évaluer la qualité d'un extrait d'après la composition chimique de celui-ci, où seul un examen organoleptique permettra d'évaluer les interactions moléculaires induites. Les différents constituants de l'huile essentielle de romarin sont regroupés dans le tableau 1

Tableau 1 : Composition de l'huile essentielle de romarin (Granget et *al.*, 1973).

Monoterpènes	Acycliques	Myrcène Linalol
	Monocycliques	Terpinéol-4 α -terpinéol Cinéole Limonène
	Aromatiques	p-cymène
	Bicycliques	α -pinène Camphène Verbénone Camphre Bornéol Acétate de bornyl
Sesquiterpènes		Caryophyllène Humulène

En 1995, Lawrence a rapporté les études de l'Afrique du Nord et de l'Europe menées sur la composition chimique de l'huile essentielle de romarin. Il a identifié trois catégories d'huiles essentielles de romarin suivant le principe actif qui prédomine avec des différences notables correspondant au lieu de culture et le moment de la récolte :

- **Le romarin officinal à camphre** : présent en Espagne et même en Algérie, il est moins fortement antiseptique mais agissant d'avantage sur le système neuromusculaire. Le camphre se trouve relié au borneol parce qu'ils appartiennent au même édifice bornane et sont déduits l'un de l'autre par oxydoréduction.

- **Le romarin officinal à cinéole** : Plus expectorant, se trouvant en Algérie, Tunisie, Maroc et l'Italie. La biosynthèse dans ce type se dirige essentiellement vers la formation du 1,8-cinéole.

- **Le romarin officinal à verbénone** : Il est situé en Espagne, Portugal et dans le sud-ouest ibérique. Il est particulièrement efficace pour les problèmes digestifs, neurotoxiques et abortifs à fortes doses. Le verbénone est relié au α -pinène, ces deux composés sont également déduits l'un de l'autre par oxydoréduction.

En Algérie le Romarin est relativement riche en l'huile essentielle (1 à 5%). Les organes pouvant renfermer l'huile essentielle sont les fleurs et les feuilles mais la plus haute qualité est obtenue à partir de ces dernières. L'importance de l'huile essentielle de Romarin a été démontrée par le grand nombre d'études publiées décrivant sa composition chimique, ses propriétés biologiques ainsi que ses applications. L'huile essentielle de romarin d'Algérie a également fait l'objet de quelques études. Ainsi, Dans la région de Bibans (Alger), le composé majoritaire est le 1,8-cinéole (52.4%), suivi du camphre (12.6%) (Boutekedjiret et al ; 1998), alors qu'un autre échantillon montre une grande variabilité quantitative en fonction de l'état de la plante (1,8- cinéole (41.7-16.0%), camphre (26.0- 9.3%), α -pinène (16.9-2.5%) (Boutekedjiret et al ; 1999). Un échantillon provenant de Bordj-Bou-Argeridj ne contient que 7,5% de cinéole à côté du camphre (12,1%), du borneol (10,1%), de l' α -terpinéol (9,5%) et surtout du (E)- β -caryophyllène (13,9%)(Benhabiles et Aït-Amar., 2007).

Comparativement, les romarins marocains présentent une teneur importante en l'un des 3 composés: α -pinène (37,0-40,0%, Rabat), cinéole (58,7-63,7%, El Ateuf), camphre (41,7- 53,8%, Taforhalt) (Elamrani et al., 2000).

Le romarin de Tunisie est également riche en cinéole (40,1-55,1%) et contient aussi les monoterpènes habituels (Lawrence, 1995).

CHAPITRE II:

MATERIEL ET METHODES

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Objectifs :

Ce présent travaille a pour objectifs d'évaluer la capacité biocide de deux huiles essentielles formulées du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur le puceron des *Citrus Aphis citricola*.

II.1. Présentation de la région d'étude

La plaine de la Mitidja est une plaine littorale étroite et longue d'une centaine de kilomètres, elle couvre une surface d'environ 1400 Km². Elle est située au centre de l'Algérie. Par le nord, la Mitidja borde les hauteurs du Sahel et la mer Méditerranée, et longe l'Atlas Blidéen au sud. Elle bénéficie d'un climat méditerranéen favorable à l'activité agricole. Elle doit sa richesse à plusieurs atouts : des sols riches avec une bonne aptitude à l'irrigation ; un climat favorable (500 à 700 mm de précipitations par an) ; une longue expérience de l'agriculture irriguée (arboriculture et maraîchage) ; une infrastructure routière bien développée ; une grande capacité de stockage et de conditionnement des produits agricoles à coté d'une forte densité d'implantation de l'industrie agro-alimentaire ; enfin, un fort potentiel de mobilisation des ressources en eau (Mac Donald et Partners, 1997).

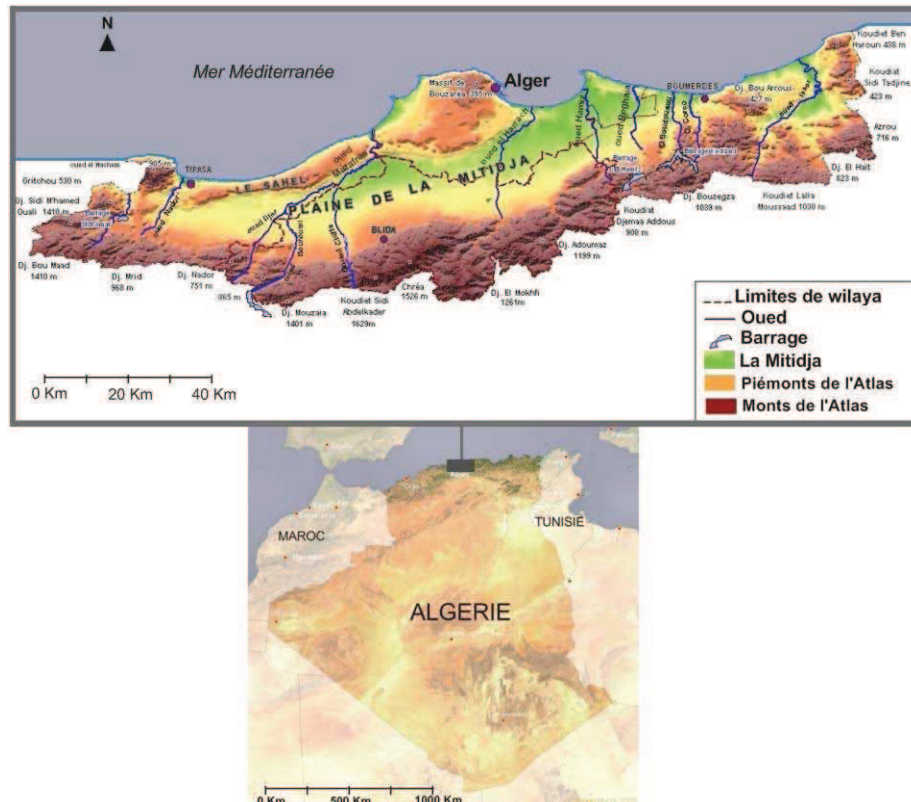


Figure 6 : Localisation géographique de la plaine de la Mitidja.

Source : d'après le Programme d'Aménagement Côtier (PAC) 2006.

II.2. Climat de la région d'étude

La Mitidja est située dans l'étage bioclimatique subhumide, à hiver doux. Le type de climat de la Mitidja est un type méditerranéen à tendance subtropicale à cause des brusques variations saisonnières (Goutcharov et Zimmy, 1968).

L'automne est généralement humide et doux, l'hiver et le printemps sont modérément pluvieux et relativement froids, l'été est chaud et sec. Les précipitations annuelles en Mitidja ont un régime typiquement méditerranéen avec un maximum en hiver et un minimum en été. Elles varient de 600 mm à 900 mm en fonction de la région considérée (localisation géographique et l'altitude) (Bagnouls et Gausson, 1953).

II.3. Synthèse climatique de la région d'étude

Les précipitations annuelles ont lieu principalement durant l'hiver et le printemps, c'est en été, saison sèche que les plus faibles précipitations sont enregistrées.

Sur le plan thermique, Les mois les plus froids sont janvier et février avec des températures moyennes minimales respectives de 4,49 °C et 4,48 °C, et une température moyenne maximale de 20,31 °C et 22,56 °C, tandis que les mois les plus chauds sont juillet et août avec des températures moyennes maximales respectives de 37,2°C et 37,00°C et de 20,54°C suivie de 22,01 °C comme températures moyennes minimales. Le diagramme Ombrothermique établie pour la période (1997 à 2012) se caractérise par deux périodes fondamentales: l'une humide de sept mois s'étalant de janvier à avril puis de octobre à décembre, l'autre sèche d'un intervalle de cinq mois de mai à septembre. Alors que pendant l'année d'étude 2010, on peut constater une période de sécheresse de cinq mois entre mai et septembre. et une autre saison froide et humide caractérisée par une pluviosité élevée, s'étalant d'octobre à avril (Tchaker, 2011).

L'indice d'EMBERGER permet la caractérisation des climats et leurs classifications dans les différents étages bioclimatiques. Cet indice est calculé par le biais du coefficient pluviométrique adopté par STEWART, dont l'équation et comme suite (Stewart, 1969).

$$Q_2 = 3,43 [(P/M-m)]$$

p : pluviométrie annuelle (mm).

M : Moyennes des températures maximales du mois le plus chaud.

m : Moyennes des températures minimales du mois le plus froid.

La valeur de coefficient pluviométrique Q_2 fixée en ordonnée alors que la température moyenne minimale du mois les plus froids fixés en abscisse, donne la localisation de la région d'étude dans le Climagramme. La région de Soumâa donc bénéficie d'un climat méditerranéen située dans l'étage bioclimatique sub-humide; à hiver doux confirmé par le calcul du quotient pluviométrique d'Emberger Q_2 , ($Q_2=70,34$) pour les quinze ans de 1997-2012 (figure7).

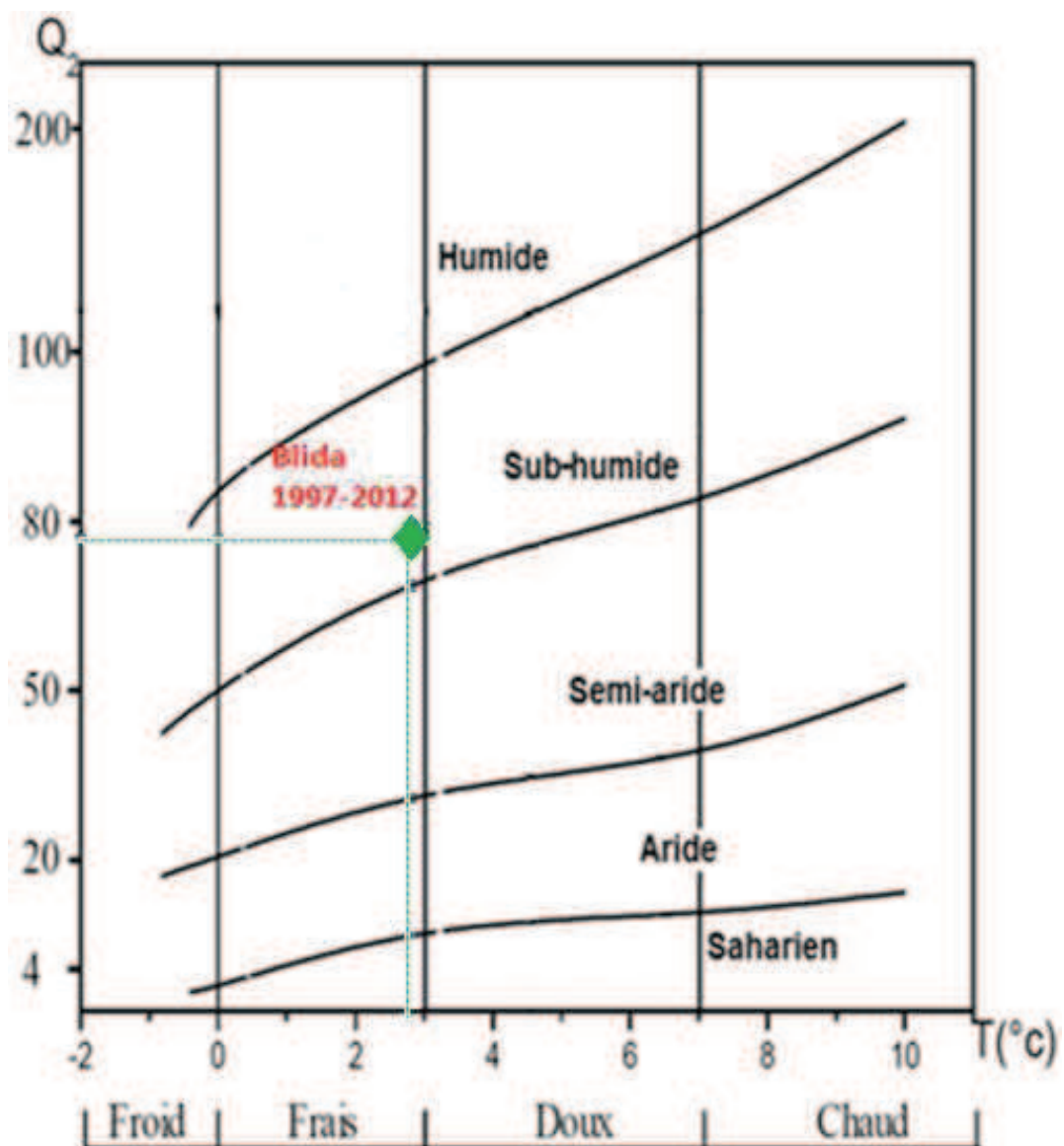


Figure7: Localisation de la région de Blida «Soumâa » dans le Climagramme d'Emberger.

II.4. Présentation du site d'étude

Notre expérimentation s'est déroulée dans la parcelle n°8 de la station expérimentale de la faculté Agro-Vétérinaire et Biologie de l'Université de Blida. Cette dernière se situe à 6Km au Nord-est de Boufarik et 4,4 Km au Sud-ouest de la ville de Blida, entre les parallèles d'une latitude 36°29et 36°30 Nord et une longitude 3°53 et 3°45 Est. Elle est limitée à l'Est par la commune de Soumaa, à l'Ouest par la commune d'Ouled yaich au nord par la commune de Beni-Mered au Nord-est par la commune Guerouaou et au sud par les montagnes de Chréa.



Figure 8: présentation du site d'étude
Source support : Google Earth, 2013

II.5. Matériel biologique

II.5.1 Matériel animal

Le matériel biologique destiné à l'évaluation de l'efficacité des traitements biologiques c'est limité aux différentes formes biologiques d'*Aphis citricola* (Homoptera, Aphididae,) évoluant sur les feuilles d'une jeune plantation de *Citrus sinensis*.

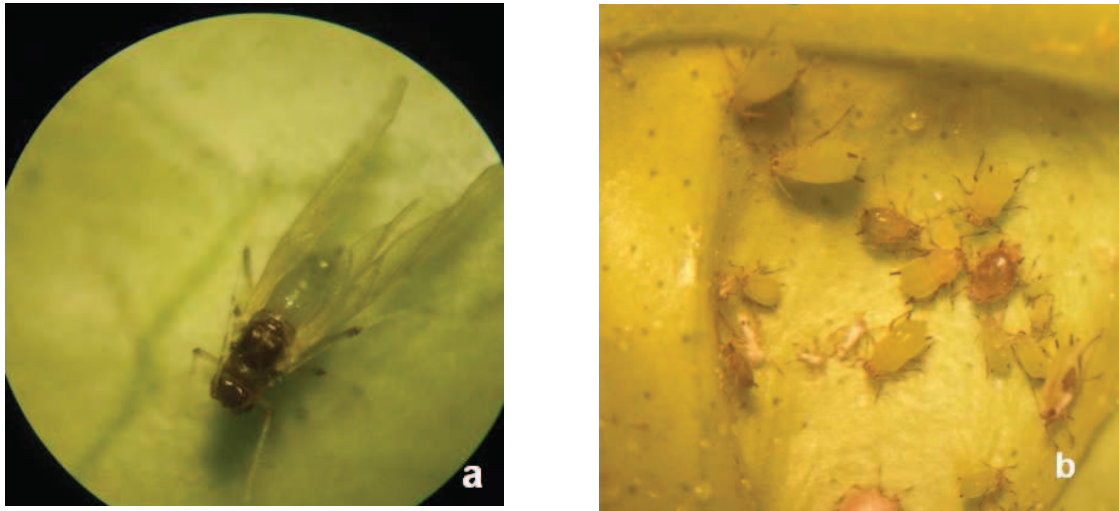


Figure 9 : *Aphis citricola* GX80 (originale 2013)
(a : adulte aptère, b : colonie de larves)

II.5.2 Matériel végétal

Nous avons choisi une plante d'ornement de haie de la famille des *Labiatae*, le romarin officinal *Rosmarinus officinalis*. Le matériel végétal est récolté au niveau du département des Sciences Agronomiques de l'Université Saad DAHLEB (Blida) en deux saisons différentes saison hivernale (Fin janvier) et saison printanière (fin avril), seule la partie aérienne (feuilles et jeunes tiges) qui a été collectée en début de matinée afin que le matériel végétal soit le plus frais possible.



Figure10 : *Rosmarinus officinalis* (originale 2013)

II.6. Extraction des huiles essentielles :

II.6.1. Choix de la méthode d'extraction :

Parmi les différentes techniques d'exploitation des plantes aromatiques, l'entraînement à la vapeur d'eau est la plus employée à l'échelle industrielle. Les principales raisons de cette préférence sont liées à la facilité de mise en œuvre du procédé, sa sélectivité est donc la qualité des produits obtenus. Cette technique est simple, peu coûteuse et donc souvent sont obtenus les meilleurs arômes et rendements. De plus, elle n'a pas une influence sur l'environnement, puisqu'elle est douce et propre, car elle ne requiert aucun solvant organique ou produit toxique. Elle est menée à basse température et pression afin de permettre à l'huile essentielle de conserver sa qualité aromatique.

II.6.2. Protocole d'extraction

L'huile essentielle est extraite par la méthode d'entraînement à la vapeur, qui consiste à découper, peser, puis macérer le végétal. Dans un ballon contenant 1,5l litre d'eau mise en chauffage, on place 400g de matière végétale fraîche sur une grille. La vapeur d'eau traverse le matériel végétal en entraînant les produits volatils vers la colonne de condensation. La vapeur condensée est le mélange d'eau et de l'huile essentielle. Celle-ci est recueillie dans une burette contenant de l'eau. L'huile est séparée de l'eau par décantation. La phase organique est récupérée et conservée dans des tubes opaques en verre à une température de 0°C à 6°C. (Figure11).

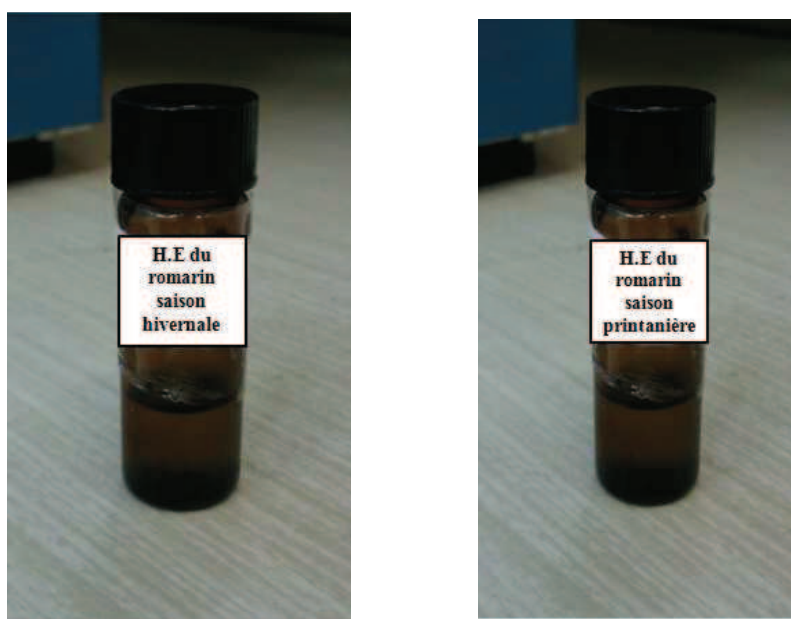


Figure11: Les huiles essentielles obtenues (originale, 2013)

II.7. Produits phytosanitaires utilisés

Les biopesticides utilisés dans cette étude sont deux huiles essentielles formulées d'origine végétale, à base du romarin (*Rosmarinus officinalis*) de deux saisons différentes (saison hivernale et saison printanière). A partir des huiles essentielles obtenues, nous avons procédé à leur formulation selon le protocole établi par Mr MOUSSAOUI K du laboratoire de phytopharmacie

Matière active (HE) + Tensioactif + Protecteur → Produit formulé (figure 12)

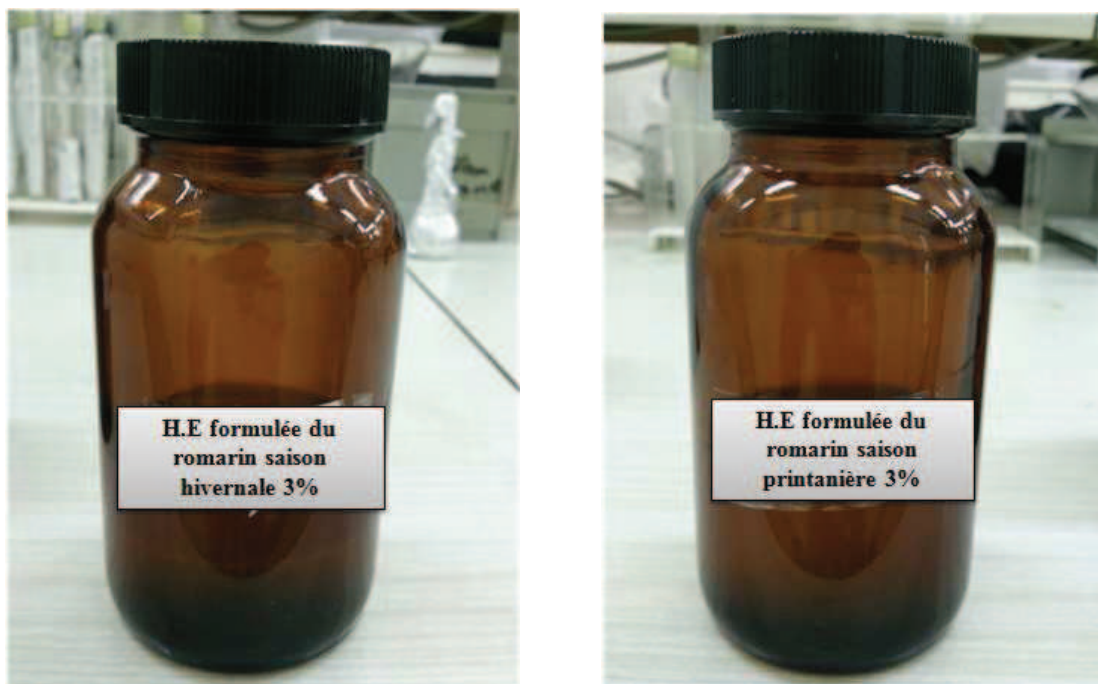


Figure 12 : Huiles essentielles formulées (originale, 2013)

II.8. Méthodes d'étude

II.8.1. Application des traitements

L'expérimentation est basée sur un apport des biopesticides, qui sont obtenues à partir de la dilution de 10 ml de la solution formulée de l'huile essentielle où on lui ajoute 100 ml d'eau.

Afin de réaliser une collection homogène du matériel biologique (les plantes), notre site d'étude est partagé en trois blocs pour l'application des différents traitements à savoir l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale, l'huile essentielle

formulée du romarin saison printanière et un bloc témoin n'ayant subi aucun traitement mais uniquement pulvérisé à l'eau courante. Chacun de ces blocs est relatif à un transect végétale. L'application des traitements a été réalisée le 06 mai 2013, et le suivi des populations d'*Aphis citricola* a été conduit au bout de 10 jours. Les deux traitements ont été pulvérisés par un pulvérisateur manuel. Le protocole de l'étude été synthétisé par les schémas si dessous (Figure13, 14).

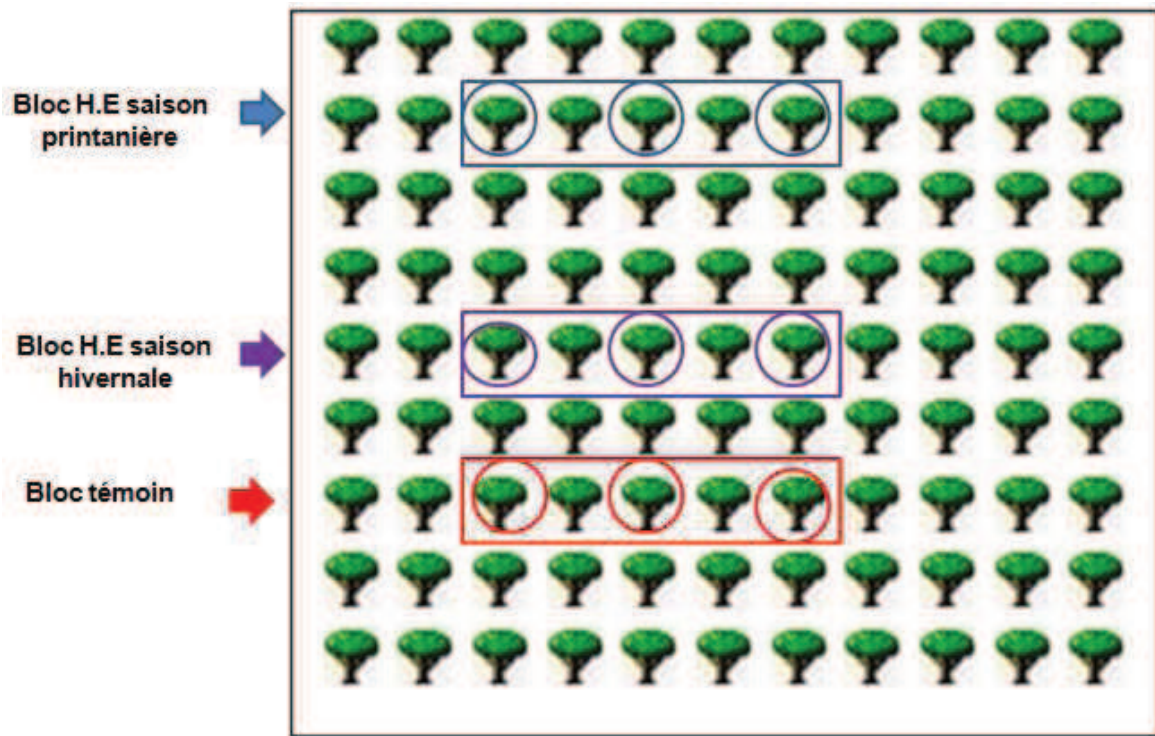


Figure13: Schéma représentant le choix des blocs dans la parcelle

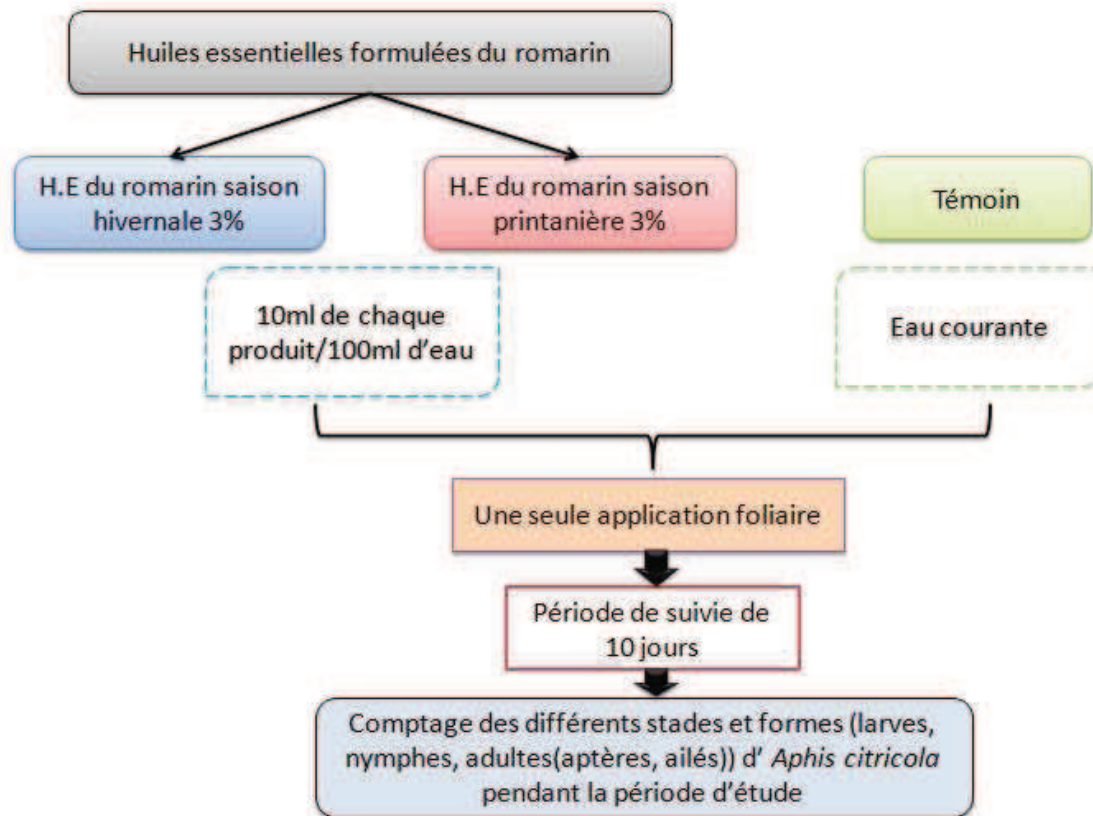


Figure14 : Schéma récapitulatif du suivi de l'étude.

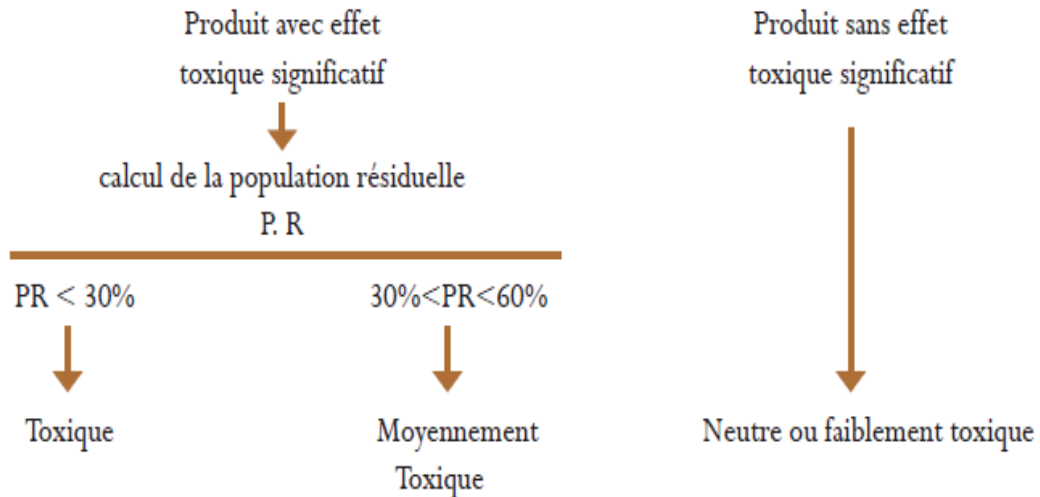
II.8.2. Technique de prélèvements

Le dénombrement des individus vivants d'*Aphis citricola* c'est effectué sur les arbres d'agrumes constituant les blocs expérimentaux. La méthode proposée par Frontier (1983) a été adoptée pour estimer l'incidence des bioproduits appliqués sur la disponibilité d'*Aphis citricola*. La méthode préconise un échantillonnage destructif aléatoire de 2 feuilles de chaque point cardinal pour chaque arbre constituant les unités expérimentales d'investigation. Les échantillonnages sont réalisés à un intervalle de 24 heures durant une période qui s'étale sur 10 jours.

Pour la conservation des échantillons, les feuilles sont placées dans un sac en papier solide, pour l'identification des sacs une étiquette sur chacun portant toutes les informations nécessaires (date de prélèvement, N° d'arbre, N° du bloc, ...etc.) est indispensable, en suite les sacs sont placés dans un réfrigérateur pour être examinées ultérieurement. Au laboratoire, le comptage des différentes formes biologiques des populations d'*Aphis citricola* a été réalisé sous loupe binoculaire (GX80).

II.8.3. Estimation des populations résiduelles

L'évaluation de l'effet toxique des traitements biologiques ont été estimés par la comparaison des populations résiduelles (P.R.) selon le Test de DUNNETT (Magali, 2009).



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

II.9. Analyses statistiques

II.9.1. Analyses multivariées (PAST vers. 1.37, Hammer *et al.*, 2001)

Dans le cas de variables quantitatives, les relations multivariées sont étudiées à l'aide d'une analyse en composantes principales (A.C.P.). Dans cette analyse, les périodes de suivies d'efficacité des bioproduits sont groupées selon la manifestation de la toxicité des bioproduits. A partir des trois premiers axes de l'analyse en composantes principales, une classification ascendante hiérarchique des abondances est réalisée dans le but de détecter des discontinuités inter-molécules.

II.9.2. Analyses de la variance (SYSTAT vers. 12, SPSS 2009)

Lorsque le problème est de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (bioproduits, saisons, formes biologiques, abondance et populations résiduelles), il est préconisé de réaliser une analyse de variance. Dans les conditions paramétriques (ANOVA pour *ANalysis Of VAriance*), la distribution de la variable quantitative doit être normale. Dans certains cas, une transformation logarithmique a été nécessaire afin de normaliser cette distribution.

Dans les cas où plusieurs facteurs sont en jeu, il peut arriver que toutes les interactions entre facteurs ne soient pas pertinentes à tester. Nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.). Par exemple, si on désire connaître l'effet des facteurs A, B et C et seulement l'interaction entre A et C, il suffit de sélectionner explicitement ces 4 catégories.

II.9.3 Distribution rangs/fréquence (PAST vers. 1.37, Hammer *et al.*, 2001)

Nous avons tenu compte la structuration en différentes formes biologiques de l'insecte et sous l'effet des différents traitements par le recours aux diagrammes rang/fréquence des formes biologiques. Les diagrammes rang/fréquences sont tracés en classant les formes biologiques de l'espèce par ordre de fréquence décroissantes. Les rangs des espèces sont portés en abscisses et leurs fréquences en ordonnées avec une échelle logarithmique. La comparaison des pentes des équations des droites au modèle naturel de Motomura par le biais des probabilités associées aux différents traitements permet d'établir la perturbation sous stress chimique.

CHAPITRE III:

RESULTATS

Chapitre III : Résultats

Les résultats relatifs à l'effet toxique des huiles essentielles formulées du romarin *Rosmarinus officinalis* sur la disponibilité, la structuration et la stabilité des formes biologiques du puceron vert des *Citrus Aphis citricola* sont présentés dans ce chapitre.

III.1. Evaluation de l'effet biocide de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance et la structure des populations d'*Aphis citricola*

III.1.1. Fluctuation temporelle de l'abondance des formes biologiques d'*Aphis citricola* sous l'effet des différentes huiles essentielles

Les graphes de la (figure 15) présente l'évolution temporelle de l'abondance d'*Aphis citricola* sous l'effet de deux huiles essentielles, l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale et l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière.

L'évaluation temporelle de l'abondance d'*Aphis citricola* sous l'effet des deux huiles essentielles est contrastée par comparaison au témoin. Les graphes de l'abondance globale et de l'abondance larvaire (Figure 15 (a, b)) révèlent une diminution précoce importante jusqu'à 4^{ème} jour, puis on voit une stabilité jusqu'à 6^{ème} jour dans la courbe saison printanière et jusqu'à 7^{ème} jour dans la courbe saison hivernale puis on a une reprise biocénotique. La reprise reste moins importante sous l'effet des huiles essentielles formulées du romarin.

Le test de Wilcoxon confirmé par le test de Monte Carlo est avancé dans le but d'apprécier la variation d'abondance dans chaque point d'échantillonnage. La comparaison des effectifs dans chaque placeaux d'observation montre que les abondances présentent une différence significative entre le bloc témoin, saison hivernale et entre les blocs expérimentaux des deux huiles essentielles formulées. (Tableau 2)

Tableau 2: Evaluation de la toxicité de différentes huiles essentielles formulées du romarin sur l'abondance globale des populations d'*Aphis citricola*

	Témoin	Saison hivernale	témoin	Saison printanière	Saison printanière	Saison hivernale
N	10		10		10	
Moyenne	136,8	88,333	136,8	110,37	110,37	88,333
Médian	114,83	57	114,83	58,667	58,667	57
Teste de WILCOXON	0,012515**		0,16881 ^{NS}		0,059336*	
Teste de Monte Carlo	0,00983**		0,19291 ^{NS}		0,06299*	

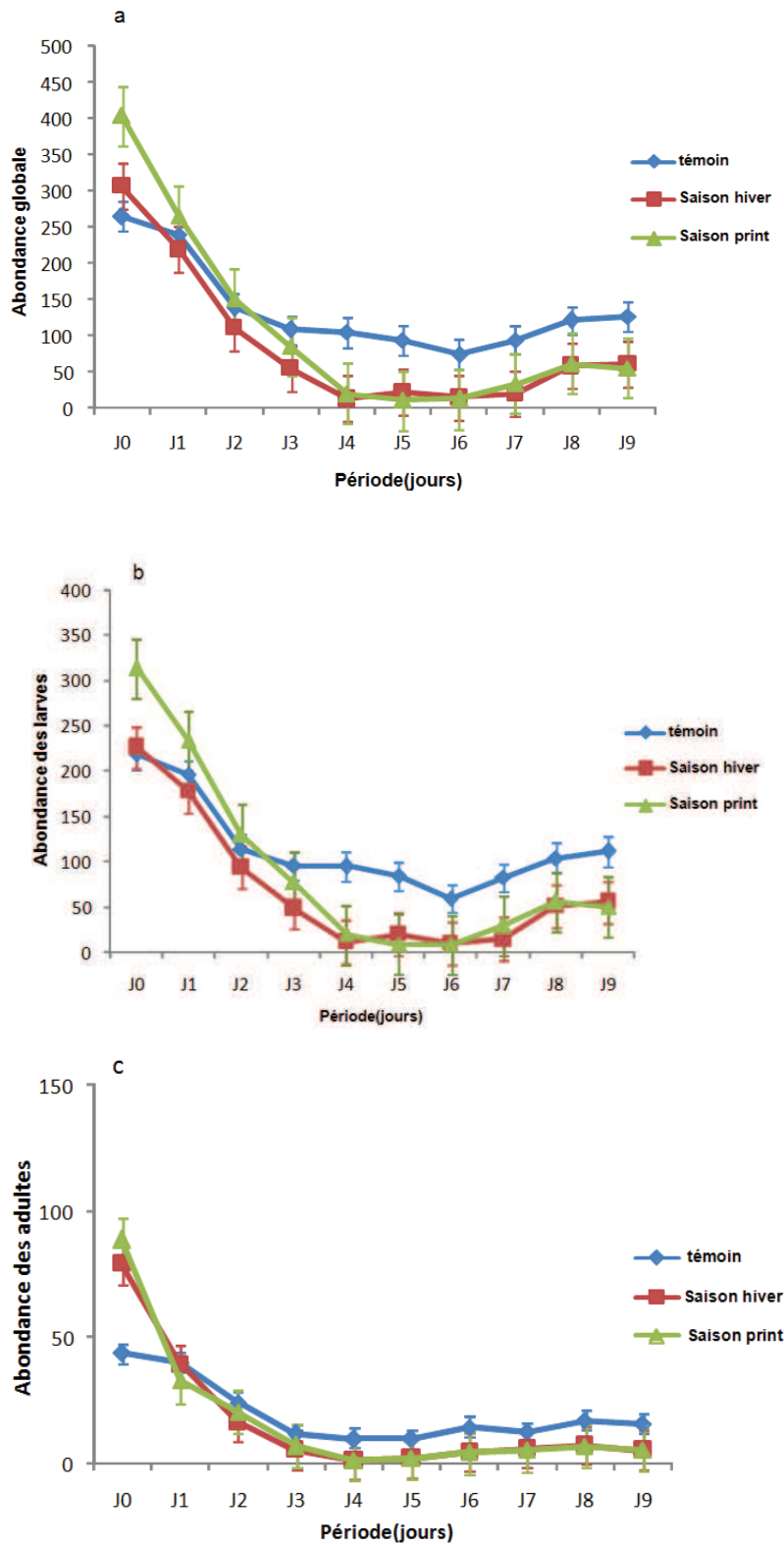


Figure15 : Evolution temporelle de l'abondance des populations d'*Aphis citricola* sous l'effet des huiles essentielles du romarin de deux saisons (hivernale et printanière) par rapport au témoin

Saison hiver : huile essentielle formulée du romarin saison hivernale ; **Saison print** : huile essentielle formulée du romarin saison printanière.

Le teste de Wilcoxon signale une différence d'abondance larvaire sous les différents régimes de stress entre le bloc témoin par comparaison au bloc saison hivernale et entre les blocs des deux traitements biologiques (Tableau 3)

Tableau 3: Evaluation de la toxicité de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance larvaire d'*Aphis citricola*

	Témoin	Saison hivernale	Témoin	Saison printanière	Saison printanière	Saison hivernale
N	10		10		10	
Moyenne	115,73	70,7	115,73	92,3	92,3	70,7
Médian	99,667	49,667	99,667	52,333	52,333	49,667
Teste de WILCOXON	0,0069104**		0,16881 ^{NS}		0,059336*	
Teste de Monte Carlo	0,00386**		0,19492 ^{NS}		0,06471 ^{NS}	

L'abondance des adultes sous l'effet de l'application des huiles essentielles formulées révèlent une diminution ou chute précoce de l'abondance d'*Aphis citricola*, puis on voit une stabilité à partir de 4^{ème} jour. Bien que l'abondance diminue naturellement durant cette période. Le témoin exprime cette tendance de la phase cyclique de la dynamique d'*Aphis citricola*, mais la diminution sous l'effet des bioproduits demeure plus importante que la diminution naturelle (Figure 15 (c)). Le test de Wilcoxon, confirme cette divergence des abondances (Tableau 4)

Tableau 4: Evaluation de la toxicité de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance des adultes d'*Aphis citricola*

	Témoin	Saison hivernale	Témoin	Saison printanière	Saison printanière	Saison hivernale
N	10		10		10	
Moyenne	19,967	16,833	19,967	17,533	17,533	16,833
Médian	15,333	5,8333	15,333	6,1667	6,1667	5,8333
Teste de WILCOXON	0,074462*		0,074462*		0,59917 ^{NS}	
Teste de Monte Carlo	0,08529*		0,08324*		0,65542 ^{NS}	

II.1.2. Tendances de l'efficacité de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance des formes biologiques d'*Aphis citricola* :

L'analyse en composantes principales (A.C.P) effectuée avec PAST vers 1.95 (Hammer et al., 2001) est satisfaisante pour l'ensemble des paramètres étudiés dans la mesure où plus de 80% de la variance sont exprimés sur les deux premiers axes (figure16)

La projection des variables relatives à l'abondance globale des populations d'*Aphis citricola*, celle de la forme larvaire et celle de la forme adulte sur les premiers axes montre que les deux huiles essentielles formulées du romarin utilisées dans les traitements agissent précocement (figure16 (a, b et c)).

Cette précocité d'effet toxique des différentes huiles essentielles formulées (saison hivernale et saison printanière) ne s'exteriorise qu'à partir du troisième jour d'exposition (figure16 (a,b et c)).

L'effet toxique précoce est confirmé par l'existence d'une corrélation positive entre les huiles essentielles formulées de la saison hivernale et printanière. Les valeurs du coefficient de PEARSON confirment cette tendance (figure16 (a, b, et c)).

La projection des abondances globales, larvaire et adultes sur le deuxième axe démontrent que les bioproduits formulés agissent différemment par rapport au témoin. IL apparait que la formulation à base d'huile essentielle de romarin issue de la saison hivernale est très contrastée par rapport à celle issue de la saison printanière (figure16 (a, b, et c)).

La corrélation négative enregistrée entre les valeurs du témoin et celle de la formulation hivernale confirme cette discrimination d'effet temporel (figure16 (a, b, et c)).

La corrélation positive enregistrée entre les valeurs des deux formulations printanière et hivernale confirme la différenciation d'effet toxique entre les deux bioproduits (figure16 (a, b, et c)).

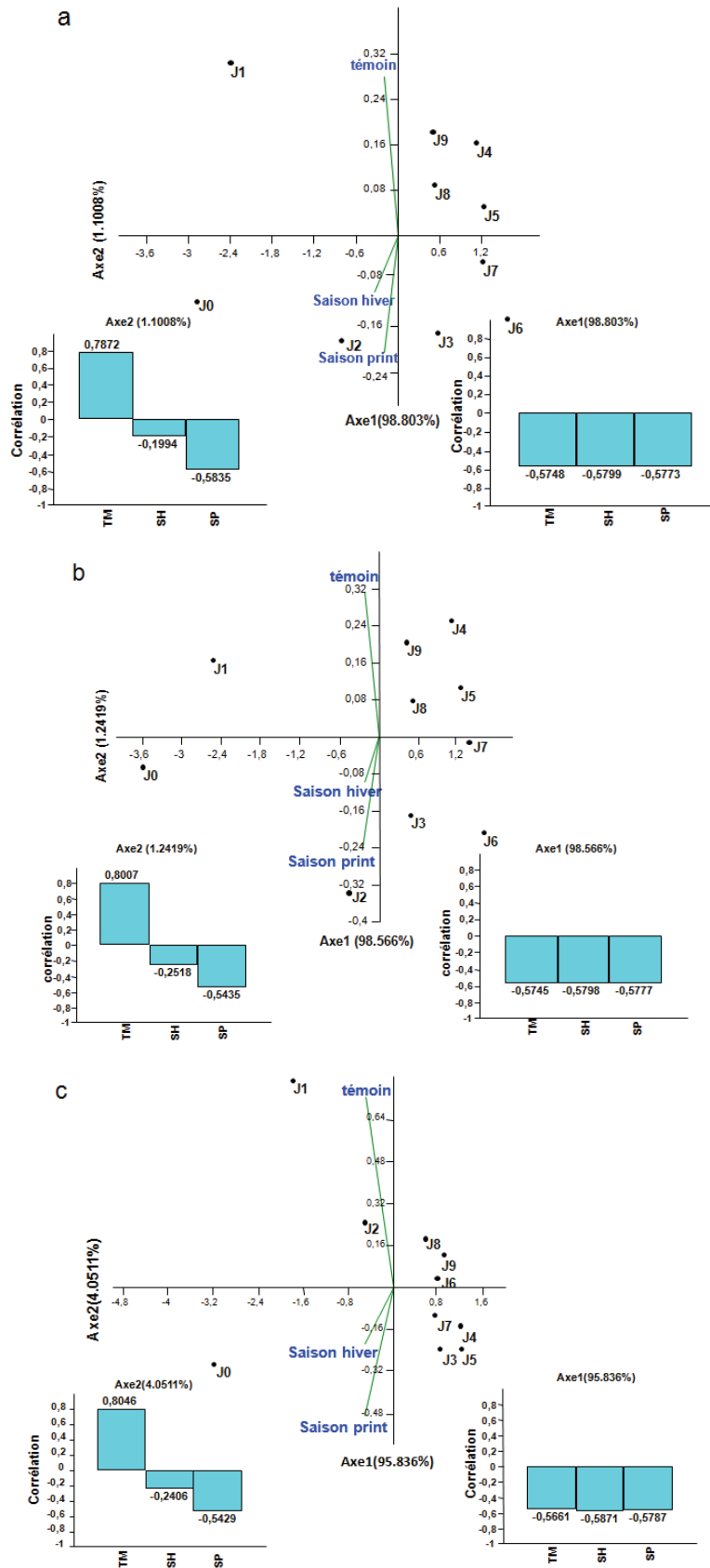


Figure16: Projection de l'abondance des populations d'*Aphis citricola* sur les deux axes de l'A.C.P

Saison hiver : l'huile essentielle formulée saison hivernale ; **saison print** : l'huile essentielle formulée saison printanière ; **SP** : saison printanière ; **SH** : saison hivernale.

III.1.3. Etude comparée de l'efficacité des huiles essentielles sur l'abondance des formes biologiques d'*Aphis citricola* :

Nous avons utilisé le modèle générale linéaire (G.L.M) de manière à évaluer la variation temporelle sur l'abondance des populations du puceron vert des *Citrus* (*Aphis citricola*) sous l'effet de deux traitements (huile essentielle formulée du romarin saison hivernale et huile essentielle formulée du romarin saison printanière). Ce modèle permet d'étudier l'effet strict des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre eux.

La variation temporelle de l'abondance présente une variation significative (figure 17 (a, c et e)). Il en est de même pour le facteur traitement, dont l'effet est significativement apparent sur l'abondance des populations globale et larvaire (figure 17 (b, d)). Les graphes ci-dessus montrent que le facteur temps présente un effet sur l'abondance des populations d'*Aphis citricola*, on observe une diminution progressive de l'abondance en fonction du temps jusqu'à 6^{ème} jour où on observe une reprise puis une stabilité dès le 8^{ème} jour d'investigation (figure 17 (a,b)).

D'après la figure (17e) on remarque une diminution précoce dans les populations du puceron jusqu'au 4^{ème} jour où on observe une stabilité populationnelle. D'après la figure (17b, d) on constate que les traitements exercent un effet sur les populations globale et larvaire du puceron avec une meilleure efficacité pour l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale suivi de l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière.

Le dénivèlement de l'abondance entre témoin et traités (H.E saison hivernale et l'H.E saison printanière) est nettement significative. la chute d'abondance est signalée également pour les deux huiles essentielles.

Dans l'esprit de mieux visualiser les fortes interactions entre l'efficacité temporelle des bioproduits, nous avons eu recours à l'analyse de la variance type ANOVA. Le test montre la présence d'une différence significative entre les facteurs période et traitement sur l'abondance globale des populations et l'abondance larvaire (figure18 (a,b,c,d,e ,f)) et une différence hautement significative sur l'abondance des adultes (figure18 (g,h,i)). Les résultats obtenues par l'ANOVA montrent que l'abondance globale et l'abondance larvaire des populations d'*Aphis citricola* diminuent dans les blocs traités en comparaison avec le témoin, cette diminution est presque identique dans les traitements biologiques. Dans le bloc saison hivernale on constate une chute précoce jusqu'au 4^{ème} jour puis une stabilité jusqu'au 7^{ème} jour suivi par une reprise biocénotique. Dans le bloc saison printanière on observe aussi une diminution précoce jusqu'au 6^{ème} jour puis une reprise (figure18 a,b,c,d,e ,f). L'abondance des adultes dans les deux blocs expérimentaux montre aussi une diminution précoce jusqu'au 4^{ème} jour puis on voit une stabilité (figure18 g,h,i).

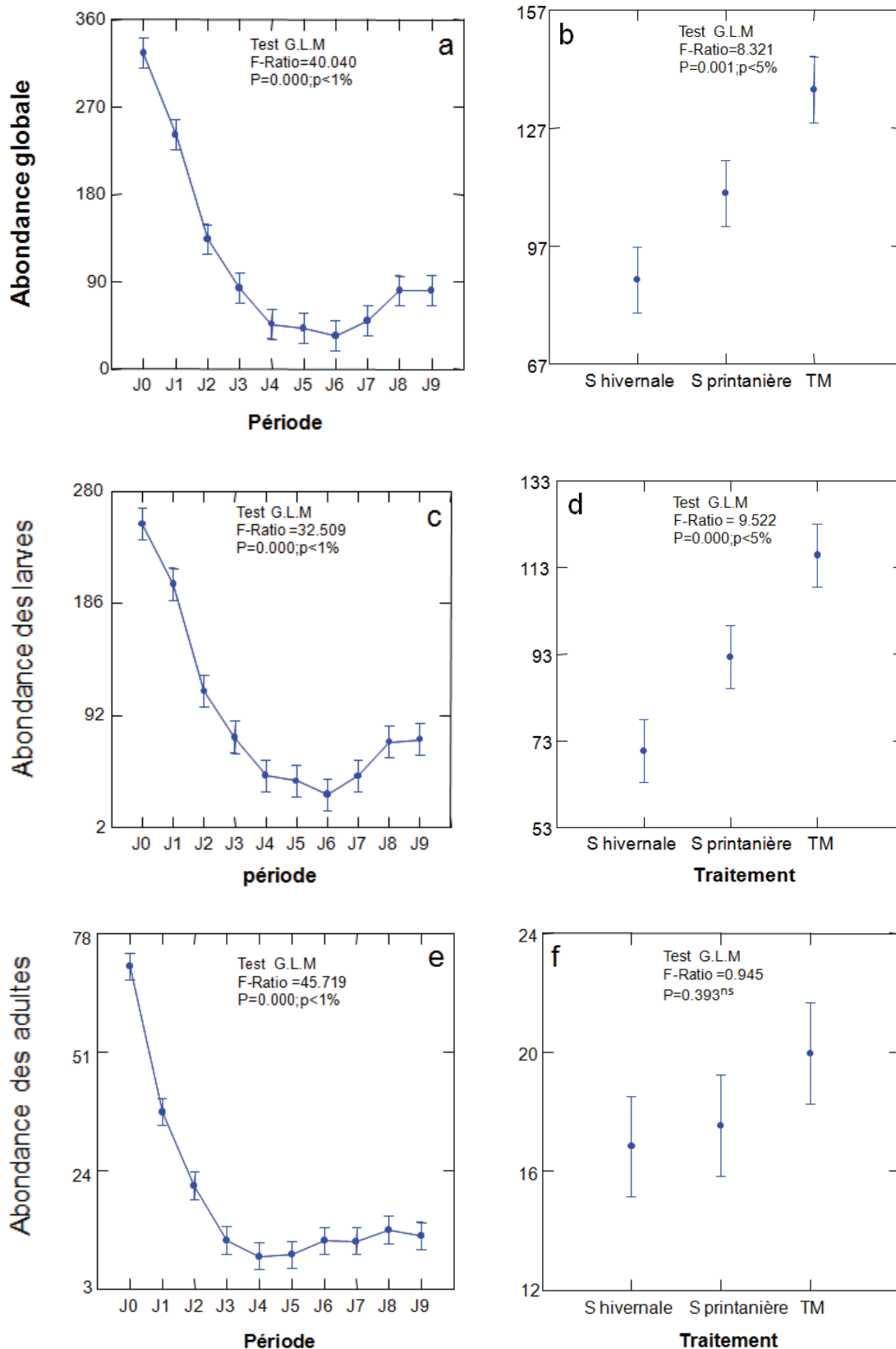


Figure17: Effets comparés de l'efficacité des huiles essentielles formulées du romarin sur l'abondance des formes biologiques d'*Aphis citricola*.

TM: témoin ; S hivernale : huile essentielle formulée du romarin saison hivernale ; S printanière : huile essentielle formulée du romarin saison printanière ; $p > 1\%$: Probabilité hautement significative ; $p > 5\%$: probabilité significative ; NS : non significative.

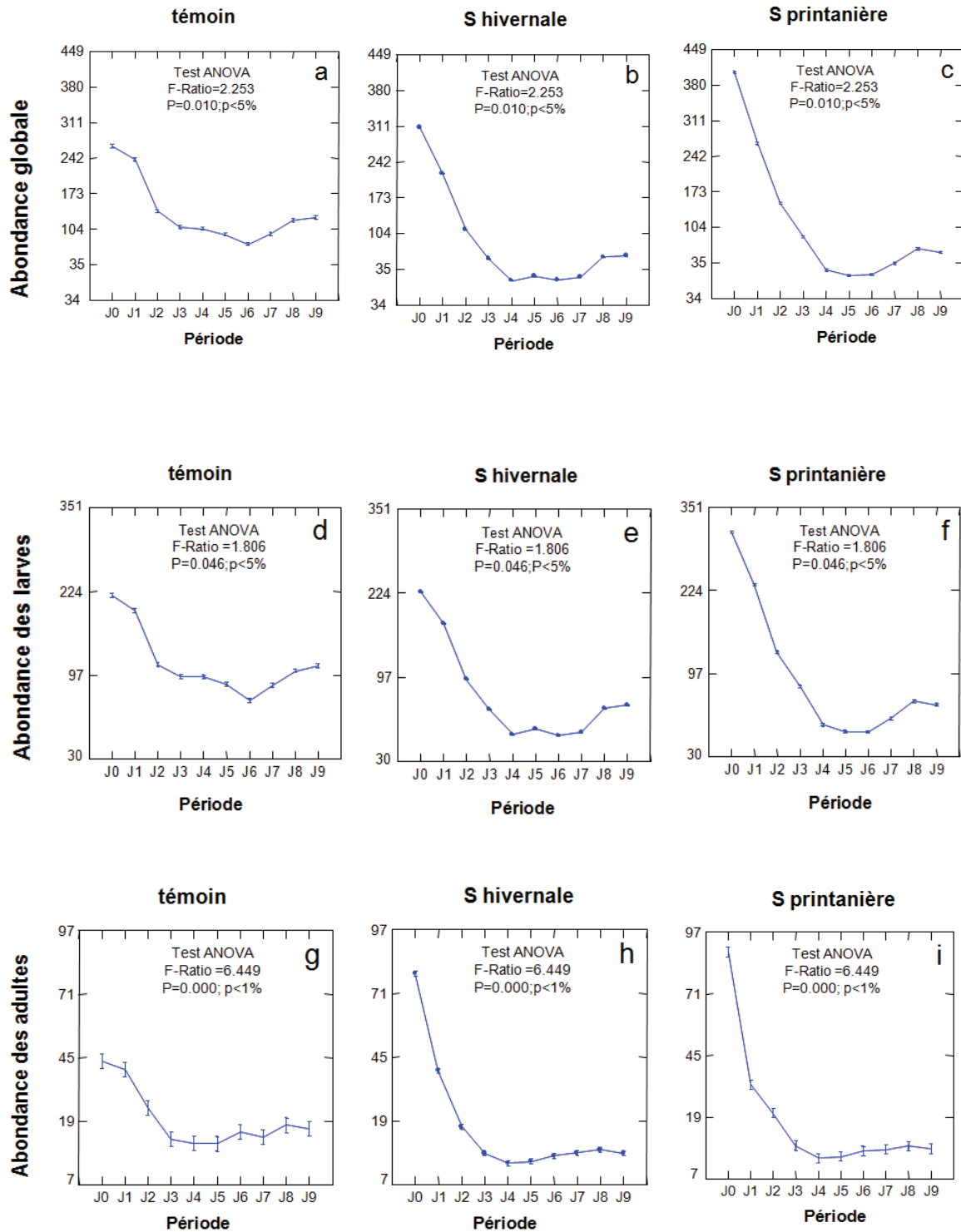


Figure 18 : Abondance comparée des populations d'*Aphis citricola* selon la période et le traitement.

S hivernale : huile essentielle formulée du romarin saison hivernale ; **S printanière** : huile essentielle formulée du romarin saison printanière ; **p < 1%** : Probabilité hautement significative ; **p > 5%** : probabilité significative.

III.2. Estimation de l'efficacité de différentes huiles essentielles du romarin sur les populations résiduelles d'*Aphis citricola*

III.2.1. Fluctuation temporelle des populations résiduelles des formes biologiques d'*Aphis citricola* sous l'effet des différentes huiles essentielles

L'application des huiles essentielles formulées du romarin (*Rosmarinus officinalis*) prélevés de deux saisons différents (saison hivernale et saison printanière) sur les populations d'*Aphis citricola* nous a permis d'estimer l'efficacité des bioproduits apportés en se référant à l'évaluation des populations résiduelles par le biais du test de DUNNET.

Durant toute la phase d'extériorisation de l'effet toxique, l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale affiche une toxicité précoce par comparaison à l'huile essentielle formulée saison printanière. Leur effet toxique s'ajuste dès le 4^{ème} jour, à partir de 8^{ème} jour on constate une stabilité sur la population résiduelle des deux traitements biologiques (figure19 (a,b))

L'évolution temporelle des populations résiduelles des adultes révèle une réduction dès le 2^{ème} jour sous l'effet d'huile essentielle formulée saison printanière et jusqu'au 3^{ème} jour pour l'huile essentielle saison hivernale, puis on voit une stabilité à partir du 7^{ème} jour sous l'effet des deux huiles essentielles formulées (figure19 (c)).

III.2.2. Tendance de l'efficacité des différentes huiles essentielles sur la population résiduelle des formes biologiques d'*Aphis citricola*

Les données relatives aux taux des populations résiduelles d'*Aphis citricola* ont été soumises à une ACP. l'analyse est satisfaisante dans la mesure où plus de 80% de la variance sont exprimés sur les deux premiers axes (figure20 a,b et c).

La projection des variables sur les premiers axes montre l'effet toxique précoce des huiles essentielles formulées à base du romarin. Les coefficients de corrélation de PEARSON associés montrent la présence d'une corrélation positive entre l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale et l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière (figure20 a,b et c).

La projection des variables sur les deuxièmes axes montre que les bioproduits formulés agissent différemment. Les coefficients de corrélation de PEARSON associés présentent pour l'ensemble des formes biologiques une corrélation négative entre les deux huiles essentielles formulées (saison hivernale et saison printanière) (figure 20 a,b et c).

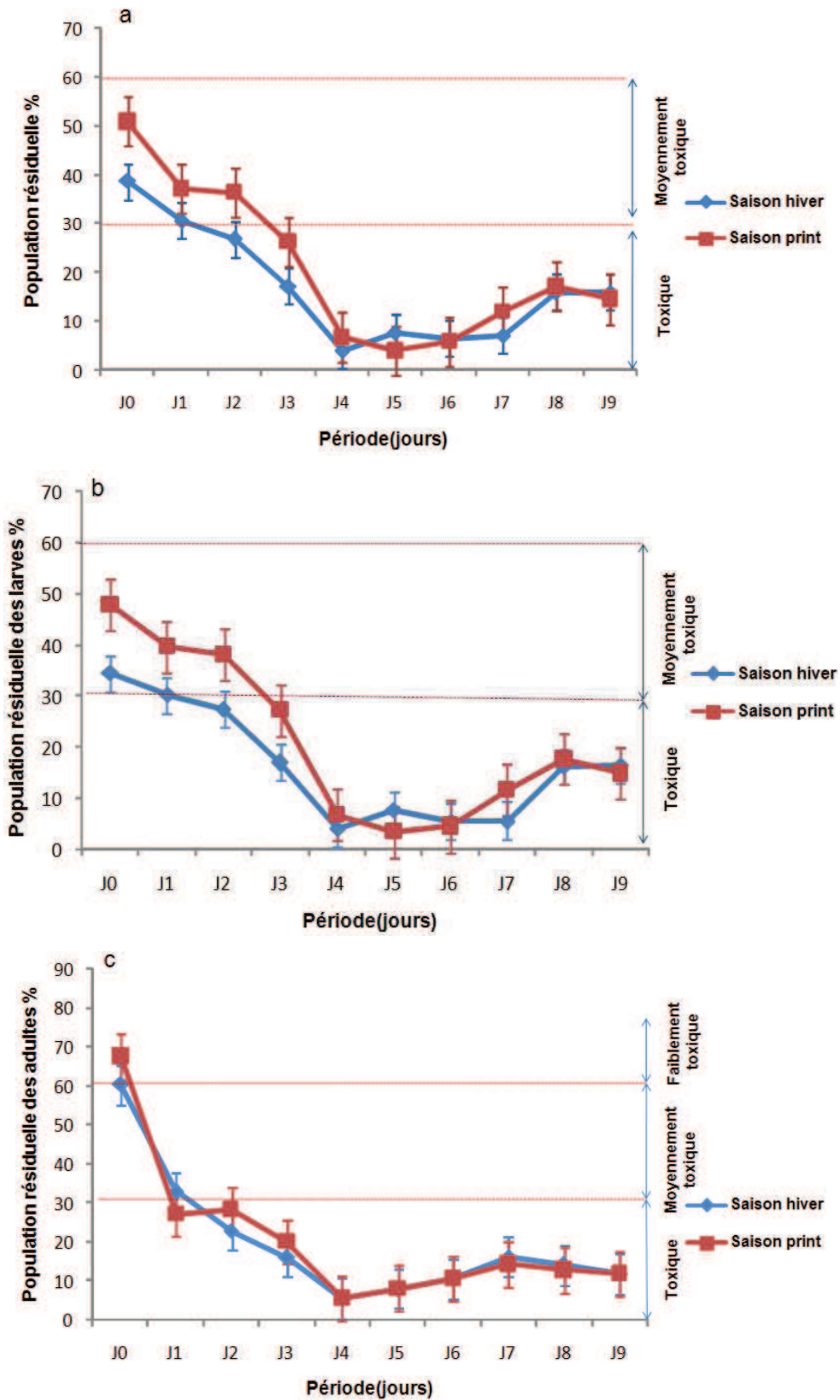


Figure 19: Evolution temporelle des populations résiduelles d'*Aphis citricola* sous l'effet des huiles essentielles formulées du romarin de deux saisons différents (hivernale et printanière).

Saison hiver : huile essentielle du romarin saison hivernale ; **saison print** : huile essentielle du romarin saison printanière.

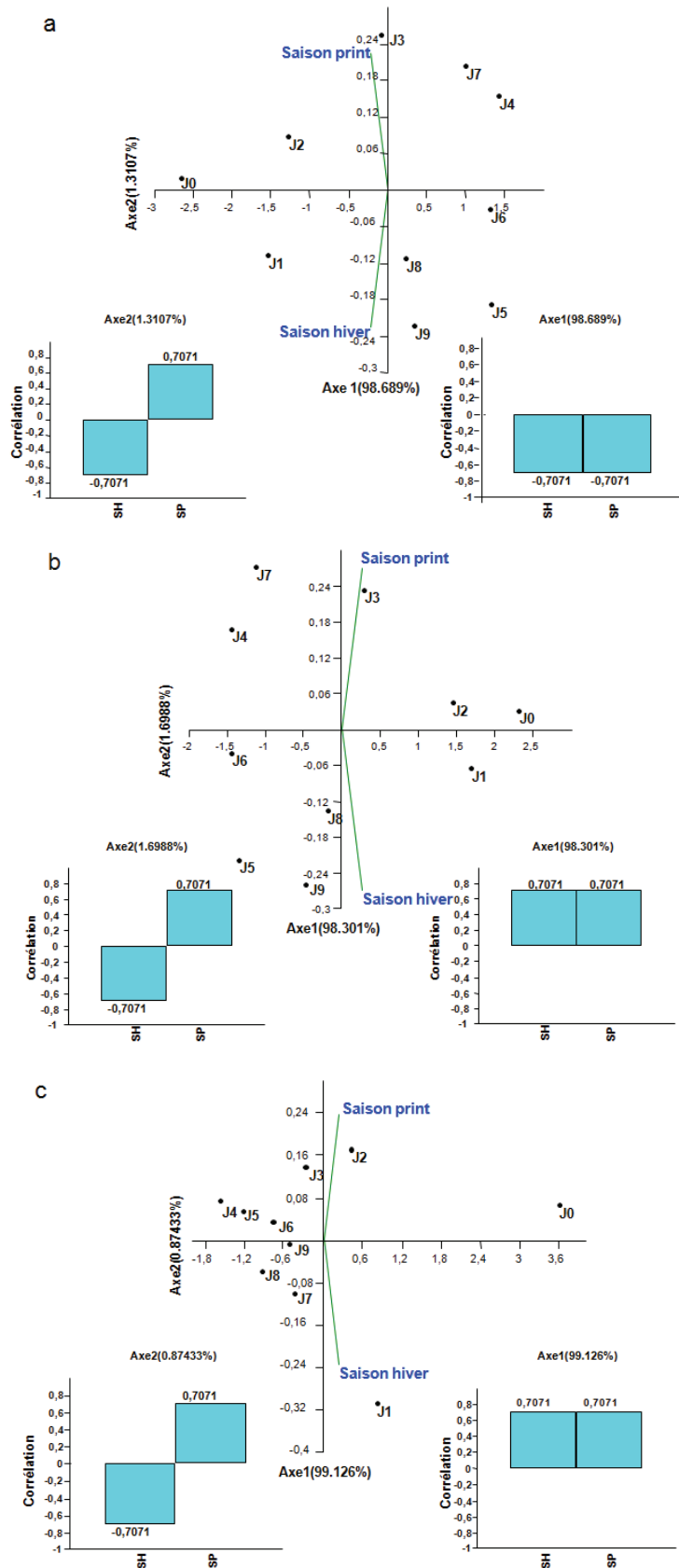


Figure20: Projection des populations résiduelles d'*Aphis citricola* sur les deux axes de l'ACP.

Saison hiver : l'huile essentielle formulée saison hivernale ; **saison print :** l'huile essentielle formulée saison printanière ; **SP :** saison printanière ; **SH :** saison hivernale.

III.2.3. Etude comparée de l'efficacité des différentes huiles essentielles sur les populations résiduelles des formes biologiques d'*Aphis citricola*

Nous avons utilisés l'analyse de la variance du type modèle général linéaire (G..L.M) pour d'une manière stricte les effets temporelles des huiles essentielles formulées de romarin de deux saisons sur les populations résiduelles d'*Aphis citricola*.

L'efficacité temporelle des traitements appliquées disigne une différence hautement signifivative dans le facteur période entre les populations résiduelles d'*Aphis citricola* d'avant et après le traitement. On constate que l'effet temporelle des produits formulés montre une toxicité moyenne (30%>PR>60%) puis devient toxique à partir de 3^{ème} jour (figure21 (a,c,e)). L'effet traitement des huiles essentielles formulées montre la présence d'une différence significative sur les taux des populations résiduelles d'*Aphis citricola* (figure 21 (b,d)).

Les deux formulations sont qualifiés par bioproduits toxique a cause du maintient des taux de populations résiduelles à moins de 30%, mais avec priorité à l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale qui est la plus toxique par rapport à l'huile essentielle formulées du romarin saison printanière.

III.3. Estimation de la stabilité populationnelle d'*Aphis citricola* sous l'effet de différentes huiles essentielles du romarin

L'abondance globale des individus d'*Aphis citricola* présente une certaine stabilité chez le témoin, alors que cette disponibilité affiche une perturbation structurale chez les populations ayant subis des apports d'huiles essentielles du romarin. Les perturbations enregistrées sont estimés par rapport à la droite de régression linéaire du modèle Motomura (figure 22a).

La présentation graphique montre une homogénéité du profil des diagrammes des traitements (témoin traité par l'eau, l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale, l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière), représentées par quatre formes biologiques avec une abondance différente entre eux, néanmoins les larves et les adultes aptères présentent une perturbation apparente par rapport à la normale notamment les adultes ailés et les nymphes (figure 22 (b, c et d)).

L'analysé les diversités comparées des différentes formes biologiques du puceron dans trois traitements (témoin traité par l'eau, l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale et l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière), par comparaison des probabilités (p) du rapprochement des fluctuations des différents traitements au modèle de Motomura, les ajustements des pentes sont statistiquement significatif pour les 3 assemblages ($p=1,94 \times 10^{-2**}$; $p < 1\%$, $p=1,10 \times 10^{-2**}$; $p < 1\%$, $p=9,04 \times 10^{-3***}$; $p < 1\%$).

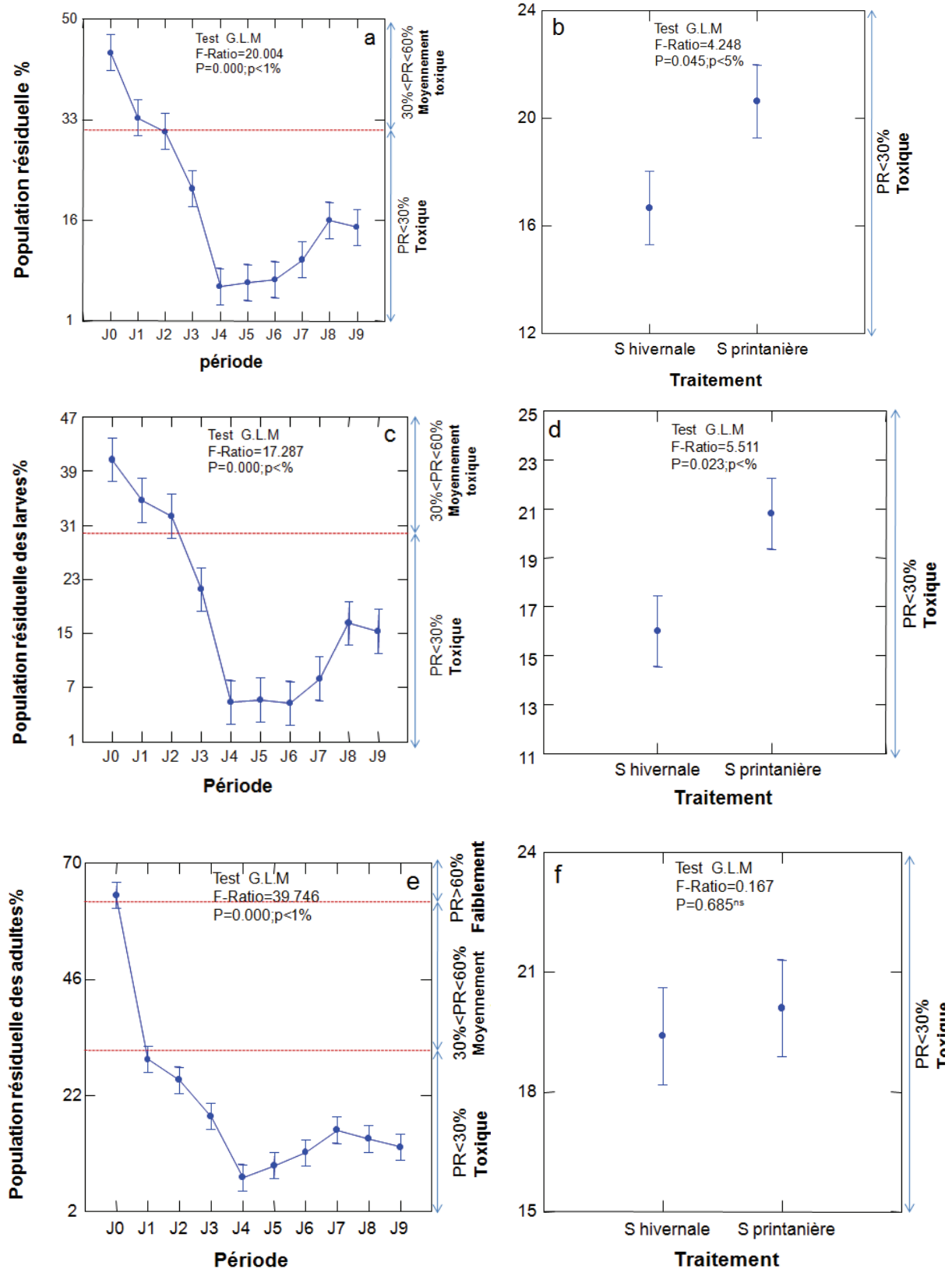


Figure21: Efficacité comparée des traitements biologiques Sur les populations d'*Aphis citricola*

S hivernale : huile essentielle formulée du romarin saison hivernale ; **S printanière** : huile essentielle formulée du romarin saison printanière ; p>1% : Probabilité hautement significative ; p>5% : probabilité significative ; NS : non significative.

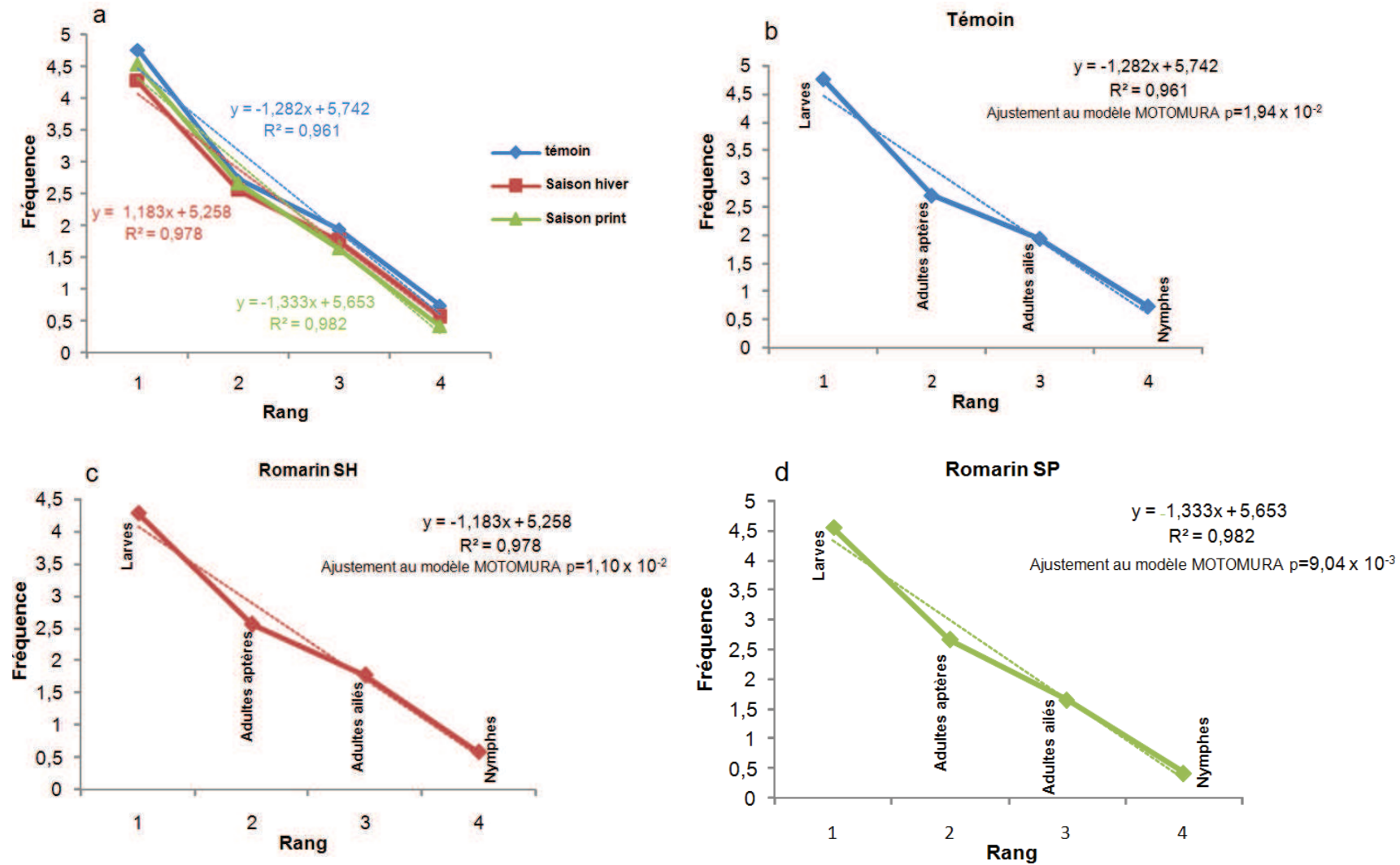


Figure 22: Diagrammes Rang/Fréquence des formes biologiques sous l'effet des huiles essentielles

CHAPITRE IV :

DISCUSSION GENERALE

IV. Discussion générale

Depuis quelques décennies, une prise au sérieux des problèmes environnementaux a incité les organismes et les institutions de recherche à développer beaucoup plus les méthodes biologiques, sous ses diverses formes en vue de limiter l'usage des pesticides chimiques. L'une de ses formes est l'exploitation des composés secondaires, provenant des plantes dans la lutte contre les insectes nuisibles. Actuellement, les huiles essentielles des plantes commencent à avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ces produits font l'objet des études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides (Yakhlef, 2010). Dans cette optique, la présente étude vise à mettre au point de nouvelles formulations à base d'huiles essentielles. Les résultats de l'efficacité comparée des huiles essentielles formulées à base du romarin de deux saisons (saison hivernale et saison printanière) sur le puceron vert de citrus *Aphis citricola* nous ont permis de dégager les hypothèses suivantes :

Les huiles essentielles ont la réputation d'avoir un pouvoir protecteur éphémère. Ngamo Tinkeu et al, 2004, ont évalué la durée de cette activité sur 5 plantes aromatiques : *Annona senegalensis*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus saligna*, *Limnophila rugosa* et *Ocimum gratissimum*. Ces plantes ont montré une activité insecticide sur *Sitophilus zeamais* le premier jour d'application, mais cette activité décroissait significativement au bout de 2 à 4 jours, pour atteindre 50% au 8^{ème} jour.

Hilan et al. (2005), avancent que des sommités fleuries de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae: *Mentha longifolia*, *Micromeria barbata*, *Micromeria myrthifolia*, *Origanum majorana*., *Origanum syriacum*., *Rosmarinus officinalis*., *Salvia libanotica*., ont été identifiées, et collectées des différentes altitudes et régions libanaises. Elles ont été hydrodistillées par la méthode de Clavenger et les huiles essentielles (HE) extraites ont été analysées des points de vue physique, chimique et chromatographique. Les teneurs en HE varient entre 7 ml et 22 ml par Kg de plante. L'odeur est caractéristique, mais la couleur varie en fonction des saisons. Les taux principaux composants de HE ont été évalués, montrant une grande diversité au sein de chaque espèce et variété de la famille des Lamiaceae. Trois catégories ont pu être caractérisées: les plantes à menthol (*Mentha*, *Micromeria barbata*, *Micromeria myrthifolia*), les plantes à thymol (*Origanum majorana* , *Origanum syriacum*), et les plantes aux terpènes volatils riches en Eucalyptol et α et β -pinène (*Rosmarinus officinalis*, *Salvia libanotica*). Les HE de ces trois catégories de plantes libanaises possèdent des taux faibles en pulgone, carvacrol et β -thuyone. Elles sont par conséquent relativement moins toxiques que celles des plantes analogues poussant en Europe. Leurs composants mineurs

favorisent avec les composants majeurs un effet synergétique pour jouer un rôle déterminant sur le plan d'utilisation médicinale ou autre.

Voukou *et al.*, (1988), estiment que les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles

Selon Belauges *et al.*, (2001) la composition chimique de l'huile essentielle variée d'une plante à une autre. D'après Dorman *et al.*, (2000), le principal facteur modifiant l'activité insecticide des HE est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents. Cependant, ce constat ne doit pas amener à penser que la toxicité d'une plante est obligatoirement liée à la nature du composé dominant.

L'application du thymol principal composé de l'huile essentielle du thym comme biofumigant réduit significativement l'incidence de la maladie causée par *Ralstonia solanacearum* (*Pseudomonas solanacearum*) sur culture de tomate à 12% à une concentration de 0.7% (Momol et Pernezny., 2005)

L'efficacité de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Mentha spicata* et ses composés le 1,8 cinéole et le carvone a été relevée vis-à-vis de *Rhyzopertha dominica* (Khalfi *et al.*, 2006) . De même une mortalité de 100% des adultes de ce ravageur après inhalation à une concentration de 0,392 mg /cm³ de l'huile de *Artemisia herba alba* a été rapportée par Boutekdjiret *et al.*, (2007).

Certains travaux ont permis l'isolement et la caractérisation de certains principes actifs, c'est le cas de la serpentine extraite de la pervanche de Madagascar efficace à 0.5 % contre les Meloidogyne (Djian-Caporalino *et al.*, 2006).

Boutekdjiret *et al.*(2004), ont extrait l'huile essentielle d'*origanum glandulosum* par entraînement à la vapeur d'eau pour étudier l'effet insecticide sur *Rhyzopertha dominica* insecte ravageur de denrée céréalière. Trois modes de pénétration ont été : contact, ingestion-contact et inhalation.les résultats des essais de toxicité ont montré que cette huile possède des propriétés insecticides sur cet insecte, elle est plus toxique par contact que par les deux autres modes de toxicité. La mortalité augmente avec la dose utilisée ; pour une concentration de 15% le taux de mortalité enregistré est de 87% à 100% quelque soit le mode de pénétration.

Ainsi, l'efficacité des huiles essentielles du céleri : *Apium graveolens* (Apiaceae), d'oranger douce : *Citrus sinensis* (Rutaceae), de gommier bleue : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), de laurier noble : *Laurus nobilis* (Lauraceae), de lavande : *Lavandula hybridae*, de basilic : *Ocimum basilicum*, d'origan : *Origanum vulgare*, du romarin : *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) et du Thuya d'orient : *Thuja*

orientalis (Cupressaceae) a été mentionnée contre un ravageur des denrées stockées *Acanthoscelides obtectus* (Bruchidae) (Papachritos et Stampoulos, 2004).

Regnault-Roger (2005) affirme que les huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris*), de l'origan (*Origanum vulgare*), du romarin (*Rosmarinus officinalis*), du basilic (*Ocimum basilicum*), de la sauge (*Salvia officinalis*) et de la coriandre (*Coriandrum sativum*) sont très toxiques vis-à-vis de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera:Bruchidae), à une dose inférieure à 10 mg/dm³.

Khalfi et al., (2008) a signalé que les huiles essentielles de l'armoise blanche *Artemisia herba alba* (Asteraceae), le genévrier *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) et le faux poivrier *Schinus molle* (Anacardiaceae) présentent respectivement un pourcentage de répulsivité de 88%, 97% et 95% vis à vis de *Rhizopertha dominica* (Coleoptera-Bostrychidae).

Tunl et Sahinkaya (1998) mentionnent que les huiles essentielles du cumin : *Cuminum cyminus*, de l'anis vert : *Pimpinella anisum* (Apiaceae) et d'eucalyptus : *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae), de l'origan : *Origanum syriacum* (Lamiaceae) sont très toxiques contre l'araignée rouge *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae)

Isman (2000) et Chiasson et Beloin (2007), en étudiant l'activité biologique des huiles essentielles de nombreuses plantes dont l'origan, basilic, marjolaine, thym, sauge, laurier, romarin, lavande et autres sur Thrips, les Pucerons, les Aleurodes, Coléoptères et les Hyménoptères, notent que les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou tel que les Thrips, les Pucerons, les Aleurodes et certains acariens. Par contre, elles se sont avérées moins efficaces avec des insectes à cuticule dure tels que des Coléoptères et Hyménoptères adultes et certains Acariens prédateurs. Les huiles essentielles *Peganum harmala* et *Cleome arabica* présentent un effet létal aussi bien sur les larves que sur les adultes de *Shistocerca gregaria*, avec une rapidité d'action moindre, notée chez les adultes comparativement aux larves L5.

Hole et al. (2005) indiquent que selon les matières actives utilisées (biologiques ou de synthèses), les arthropodes non-cibles ne sont pas nécessairement plus sensibles aux traitements que les espèces cibles, et la fonction de régulation exercée par les auxiliaires n'est donc pas nécessairement altérée par la lutte phytosanitaire. Globalement toutefois, une plus forte abondance des insectes auxiliaires et des araignées dans les cultures en agriculture biologique, comparée aux cultures protégées au moyen de pesticides chimiques. Par ailleurs, le déclin des espèces pollinisatrices, hyménoptères et diptères, très largement documenté dans la communauté scientifique, est attribué pour partie à l'utilisation des pesticides, mais également à la fragmentation des habitats et à la réduction des ressources alimentaires liées à la diversité végétale.

Parmi les deux modalités de protection, les parcelles en agriculture biologique présentent la plus grande abondance et la plus forte richesse spécifique en arthropodes phytophages et auxiliaires. Ces deux indices ne différencient pas significativement entre elles les modalités confusion et conventionnel. Le rapport prédateurs-proies est légèrement mais non significativement supérieur dans les vergers en agriculture biologique. On note également que valeurs d'abondance et de richesse spécifique des arthropodes sont plus fortes dans les haies que dans le verger, et que le système de protection influe aussi bien sur les communautés du verger que sur son environnement végétal. La diversité des ne sépare pas les parcelles des différentes modalités mais tend à être plus élevée dans les haies des parcelles en agriculture biologique que dans celles des deux autres modalités. (Simon et al., 2007).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion et perspectives

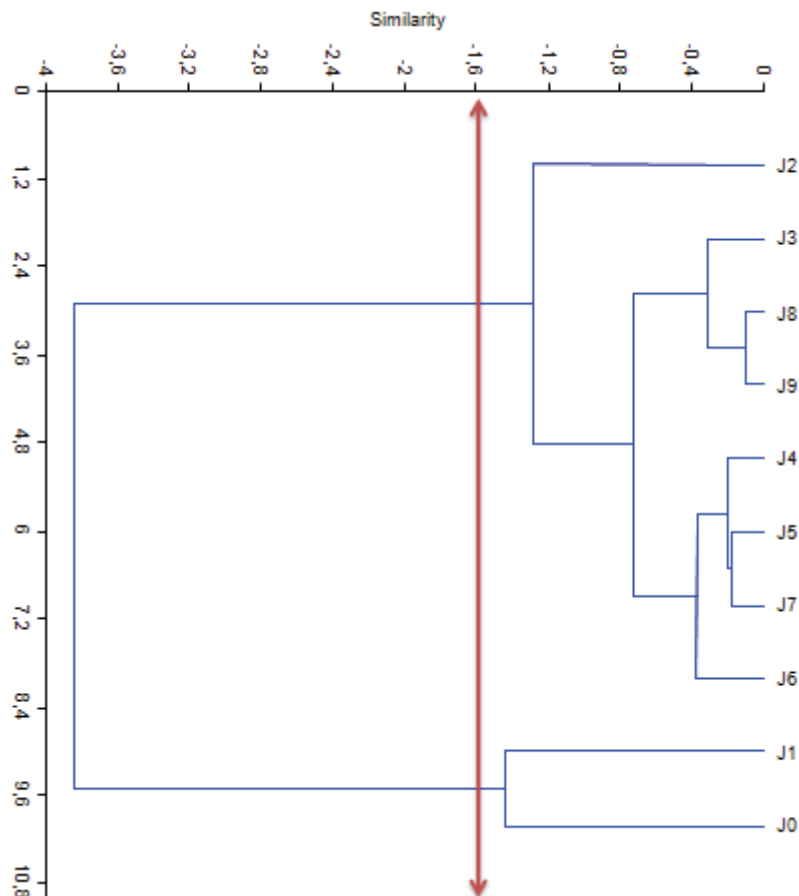
Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'effet toxique des huiles essentielles formulées à base du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la disponibilité, la structuration et la stabilité des formes biologiques du puceron vert des *Citrus Aphis citricola*. Les résultats obtenus nous permis de dégager les principaux constats

Les résultats de cette étude semblent être intéressants dans la mesure où les formulations confirment leur pouvoir insecticide vis-à-vis du bioagresseur cible. Toutefois, ils dénotent que les traitements biologiques par le biais de la formulation à base de l'huile essentielle du romarin de deux saisons à savoir hivernale et printanière ont présentés un effet répressif sur l'abondance des populations d'*Aphis citricola*. Les applications réalisées à partir des deux formulations des huiles essentielles causent une diminution importante à partir du 4^{ème} jour sur l'abondance globale des populations d'*Aphis citricola*. La même efficacité est enregistrée par rapport aux différents stades biologiques (larves et adultes). Les mêmes résultats nous ont permis de signaler une gradation de l'efficacité croissantes des traitements biologiques allant respectivement de celle de l'huile essentielle formulée du romarin saison printanière suivi par l'huile essentielle formulée du romarin saison hivernale qui a montré la plus forte efficacité sur l'abondance des populations d'*Aphis citricola*.

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles formulées ont montré un effet toxique précoce sur les formes biologiques traitées. Ces résultats ont été enregistrés sur les deux huiles essentielles testées. Selon la fluctuation des populations résiduelles sous l'effet des formulations d'huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis*), nous estimons que la formulation a données plus de stabilité et d'efficacité aux molécules constituants l'huiles essentielles complètes du romarin.

L'analyse rang/fréquence montre une perturbation structurale chez les populations d'*Aphis citricola* traité par les huiles essentielles formulées du romarin. Les résultats montrent que toutes les formes biologiques (larves, nymphes, adultes ailés et aptères) présentent une différence d'abondance, avec une perturbation apparente par rapport à la normale.

ANNEXE



Annexe 1 : classification hiérarchique ascendant des traitements biologiques sur l'abondance globale des populations.

Tableau1 : analyse des composants principaux des deux traitements sur l'abondance globale

	témoin	saison hivernale	saison printanière
J0	265,333333	308	404,666667
J1	239,333333	219,333333	266,333333
J2	138,666667	111,333333	151
J3	108,333333	55,666667	85,333333
J4	105	13	21
J5	93,666667	21,666667	11
J6	74,666667	14,666667	13
J7	94,666667	20,333333	34
J8	121,333333	58,333333	62
J9	127	61	55,333333

TABLE DE MATIERE

TABLES DE MATIERE

REMERCIEMENTS.....	
DEDICACES.....	
RESUME.....	
OBSTRACT.....	
ملخص.....	
SOMMAIRE.....	
LISTE DES SYMBOLES ET D'ABREVIATIONS.....	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....	
INTRODUCTION GENERALE.....	01
Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	02
I.1 Présentation des agrumes et état phytosanitaire.....	02
I.1.1. Définition.....	02
I.1.2. Classification.....	02
I.1.3. Importance de l'agrumiculture.....	02
I.1.3.1. Dans le monde.....	02
I.1.3.2. En Algérie.....	03
I.1.4 Exigences des agrumes.....	03
I.4.1. La température.....	03
I.4.2. La pluviométrie.....	03
I.4.3. L'humidité.....	04
I.4.4. Le sol.....	04
I.1.5 Phénologie.....	04
I.1.6 Les ravageurs des agrumes.....	04
I.1.6.1. Les acariens.....	05
I.1.6.2. Les diptères.....	05
I.1.6.3. Les cochenilles.....	05
I.1.6.4. Les Aleurodes.....	06
I.1.6.5. Les lépidoptères.....	06
I.1.6.6. Les pucerons.....	07
I.2 Données sur les huiles essentielles.....	07
I.2.1. Définition.....	07
I.2.2. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	08
I.2.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante.....	09
I.2.4. Propriétés physiques des huiles essentielles.....	10
I.2.5. Composition chimique.....	10
I.2.5.1. Les terpènes.....	10
I.2.5.2. Les composés aromatiques.....	11
I.2.5.3. Les composés d'origine diverses.....	11
I.2.5.4. Notion de chémotype.....	11
I.2.6. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentiels.....	11
I.2.6.1. Les facteurs intrinsèques.....	11
I.2.6.2. Les facteurs extrinsèques.....	12

I.2.7.	Toxicité des huiles essentielles.....	12
I.2.8.	Méthodes d'extraction.....	12
I.2.8.1.	Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	12
I.2.8.2.	Extraction par hydro distillation d'huile essentielle.....	13
I.2.8.3.	Expression à froid.....	14
I.2.8.4.	Extraction assistée par micro-ondes.....	14
I.2.8.5.	Extraction par les solvants et les graisses.....	14
I.3.	Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	14
I.3.1.	Activité insecticide.....	15
I.3.2.	Activité acaricide.....	16
I.3.3.	Sites d'action des huiles essentielles.....	17
I.3.3.	Activité fongicide et bactéricide.....	18
I.4.	Présentation du romarin officinale <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
I.4.1.	Etymologie.....	18
I.4.2.	Caractéristiques botaniques.....	19
I.4.3.	Habitat et culture.....	19
I.4.4.	Domaine d'utilisation de la plante.....	19
I.4.3.1.	Industrie agro-alimentaire.....	20
I.4.3.2.	Industrie cosmétique et parfumerie.....	20
I.4.3.3.	La thérapie.....	20
1.4.5.	Composition chimique de Romarin.....	21
CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES		
II.1.	Présentation de la région d'étude.....	23
II.2.	Climat de la région d'étude.....	24
II.3.	Synthèse climatique de la région d'étude.....	24
II.4.	Présentation du site d'étude.....	26
II.5.	Matériel biologique.....	26
II.5.1.	Matériel animal.....	26
II.5.2.	Matériel végétal.....	27
II.6.	Extraction des huiles essentielles.....	28
II.6.1.	Choix de la méthode d'extraction.....	28
II.6.2.	Protocole d'extraction.....	28
II.7.	Produits phytosanitaires utilisés.....	29
II.8.	Méthodes d'étude.....	29
II.8.1.	Application des traitements	29
II.8.2.	Technique de prélèvements.....	31
II.8.3.	Estimation des populations résiduelles.....	32
II.9.	Analyses statistiques.....	32
II.9.1.	Analyses multivariées (PAST vers. 1.37, Hammer <i>et al.</i> , 2001)	32
II.9.2.	Analyses de la variance (SYSTAT vers. 12, SPSS 2009).....	32
II.9.3.	Distribution rangs/fréquence (PAST vers. 1.37, Hammer <i>et al.</i> , 2001).....	33
CHAPITRE III: RESULTATS		
III.1.	Evaluation de l'effet biocide de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance et la structure des populations d' <i>Aphis citricola</i>	34

III.1.1.	Fluctuation temporelle de l'abondance des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i> sous l'effet des différentes huiles essentielles.....	34
III.1.2.	Tendance de l'efficacité de différentes huiles essentielles du romarin sur l'abondance des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i>	37
III.1.3.	Etude comparée de l'efficacité des huiles essentielles sur l'abondance des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i>	39
III.2	Estimation de l'efficacité de différentes huiles essentielles du romarin sur les populations résiduelles d' <i>Aphis citricola</i>	42
III.2.1.	Fluctuation temporelle des populations résiduelles des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i> sous l'effet des différentes huiles essentielles.....	42
III.2.2.	Tendance de l'efficacité des différents huiles essentielles sur la population résiduelle des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i>	42
III.2.3.	Etude comparée de l'efficacité des différentes huiles essentielles sur les populations résiduelles des formes biologiques d' <i>Aphis citricola</i>	45
III.3	Estimation de la stabilité populationnelle d' <i>Aphis citricola</i> sous l'effet de différentes huiles essentielles du romarin.....	45
	CHAPITRE IV : DISCUSSION GENERALE.....	48
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	52
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	
	ANNEXE.....	
	TABLE DES MATIERES.....	