

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABOU-BAKR BELKAID TLEMCCEN
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers
Département d'Ecologie et Environnement

Laboratoire de recherche : Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels

THESE

Présentée par

BEN YAHIA Née BOUAYAD ALAM SAMIRA

En vue de l'obtention du

Diplôme de Doctorat

En Ecologie et Biologie des populations

Thème

**Activités antimicrobiennes et insecticides de *Thymus capitatus*,
Daucus crinitus et *Tetraclinis articulata* sur la mineuse
Tuta absoluta (Meyrick) et la microflore pathogène de la tomate
*Lycopersicum esculentum***

Soutenue en 2015, devant le jury composé de :

Président	BENABADJI Noury	Professeur	Univ.Tlemcen
Directeur de thèse	GAOUAR-BENYELLES Nassira	Professeur	Univ.Tlemcen
Co-Directeur de thèse	DIB. Mohamed Amine	MCA	Univ.Tlemcen
Examineurs	ABDELOUAHED Djamel	Professeur	Univ.Tlemcen
	SOUIZI Abdelaziz	Professeur	Univ.Kénitra
	BEN HALIMA-KAMEL Monia	MC	I.S.A.Tunis

Année Universitaire 2014-2015

Dédicace

*C'est avec un cœur plein d'humilité que je dédie ce mémoire :
A la mémoire du regretté mon oncle < Dr Boudghène Stambouli
Chouaib > que dieu le tout puissant, lui accorde sa Sainte
Miséricorde et l'accueille en son Vaste Paradis.*

*Aux êtres les plus chers (mes parents) qu'ils trouvent dans ce
travail une récompense des sacrifices qu'ils ont consenti, pour
mon éducation et n'ont jamais cessé de m'encourager pour entre
prendre ces études et atteindre cet objectif ;*

*A mon mari Anouar qui est la personne la plus importante à
mon cœur, sa compréhension, son amour, ses encouragements et
son aide tous au long de ce travail ;*

A mes deux garçons M. Nizar et Mahir R. que j'aime beaucoup ;

A ma grand-mère, qui m'entoure de sa plus grande affection ;

A ma sœur Sihem, son mari et leurs enfants : Mehdi, Malek et

Norhèn ;

A mon frère Chaïb ;

A ma belle mère ; mes belles sœurs et mes beaux frères ;

*A tous les membres de ma famille maternelles et paternelles qui
se reconnaîtront ainsi que mes amies (Malika, Nesrine, Sara,*

Chahinez, Amel, Asma, Wafaa, Zakat, Sanaa, Leïla, Amina,

Zahra, Fatima...) ;

*A tous ce qui m'ont aidé et encouragé dans ce mémoire, même
avec une bonne parole.*

Remerciement

Aussi originale que personnel que puisse être une thèse, elle demeure le fruit d'un environnement.

Avant tout, je remercie **DIEU** le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage afin que je puisse accomplir ce modeste travail et d'avoir créé ce beau monde qui nous donne l'envie de savoir d'avantage.

Celle-ci n'aurait pu être sans l'impulsion et l'appui, donnés par madame **N. GAOUAR-BENYELLES** Professeur à l'université de Tlemcen, je profite de l'occasion qui m'est ainsi donnée pour la remercier vivement de m'avoir accordé sa confiance et m'a fait l'honneur en acceptant la direction de ma thèse, mais aussi pour m'avoir accordé généreusement le privilège de sacrifier des moments importants et me faire profiter de sa solide expérience.

Ses nombreuses connaissances scientifiques, son dynamisme, sa disponibilité et ses précieux conseils et orientations m'ont permis d'avancer plus loin, afin d'aboutir à ce travail. Je le suis donc doublement reconnaissante.

Je la remercie chaleureusement et tout particulièrement, pour ses grandes qualités humaines et son soutien permanent. Tout au long de ces années. C'est une chance inouïe et un réel plaisir de travailler sous sa direction.

Je suis infiniment reconnaissante à monsieur **M.A. DIB** Maître de conférence à l'université de Tlemcen qui s'est toujours intéressée à mon travail et qui m'a guidé et dirigé avec ses conseils et directives. Je le remercie profondément de m'avoir donné la possibilité d'améliorer mon manuscrit avec le choix des plantes, leurs compositions chimiques et des tests effectués dans cette étude. Je le remercie donc vivement pour sa contribution et son aide efficace.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à Monsieur **BENABADJILN**, Professeur à l'institut de Biologie. Pour m'avoir fait le grand honneur d'accepter la présidence du jury.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur **ABDELOUAHED. D**, Professeur à l'université de Tlemcen d'avoir accepté de faire partie des membres du jury de mon travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude à l'égard de Monsieur **SOUIZI. A**, Professeur à l'Université Ibn Tofail , de Kénitra au Maroc d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Qu'il trouve ici toutes mes expressions respectueuses.

Ma profonde gratitude va également à Madame **KAMEL. M, BENHALIMA** pour avoir bien voulu accepter de faire partie des membres du jury et d'examiner ce travail.

Je reste également redevable à monsieur **BELYAGHOUBI. L**, Enseignant à l'université de Tlemcen, pour sa contribution et son aide efficace concernant la réalisation de l'identification des moisissures. Une grande partie de cette thèse n'aurait jamais pu être réalisée.

Mes sentiments de reconnaissances et remerciements vont aussi à monsieur **CHERIF AMEUR**, Professeur à l'université de Sidi Thabet en Tunisie, de m'avoir invité dans son laboratoire et de participé à l'identification des bactéries.

Je remercie également monsieur **REBIAHI**, Professeur à l'université de sa disponibilité et ses conseils dans la partie microbiologique.

A tous ce qui m'ont aidé et encouragé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse, même avec une bonne parole.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Valeurs de la superficie et la production de la tomate dans la commune de Remchi et la wilaya de Tlemcen	9
Tableau 2 : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de tomate (Favier et <i>al.</i> , 2003).....	10
Tableau 3 : Caractéristiques de la station de Zenata	48
Tableau 4 : Longévité des adultes de <i>Tuta absoluta</i> (jours)	77
Tableau 5 : Rendements en huile essentielle de <i>T. capitatus</i> , <i>D. crinitus</i> et <i>T. articulata</i> (moyenne±écartype)	82
Tableau 6 : Composition chimique des huiles essentielles de <i>T. capitatus</i> , <i>D. crinitus</i> et <i>T. articulata</i>	83
Tableau 7 : Rendements obtenus avec l'approche séquentielle d'extraction pour les différentes plantes	86
Tableau 8 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne à différents volumes d'huiles essentielles	97
Tableau 9 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) des différentes souches en fonction du temps et de la concentration des extraits de <i>Thymus capitatus</i>	99
Tableau 10 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) des différentes souches en fonction du temps et de la concentration des extraits de <i>Tetraclinis articulata</i>	100
Tableau 11 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) des différentes souches en fonction du temps et de la concentration des extraits de <i>Docus crinitus</i>	101
Tableau 12 : Pourcentage de diffusion des champignons sur la tomate	103
Tableau 13 : Diamètre d'inhibition (mm) (moyenne ±écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> sèche (5, 2 et 1µL)	106
Tableau 14 : Diamètre d'inhibition en (mm) (moyenne ±écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> fraîche (5, 2 et 1µL).....	107

Tableau 15 : zones d'inhibition* en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> sèche (5, 2 et 1 μ L)	109
Tableau 16 : Diamètre d'inhibition en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Thymus capitatus</i> fraîche (5, 2 et 1 μ L).....	110
Tableau 17 : Diamètre d'inhibition en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Tetraclinis articulata</i> (2, 5 et 10 μ l).....	111
Tableau 18 : Diamètre d'inhibition en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Tetraclinis articulata</i> (2, 5 et 10 μ l).....	112
Tableau 19 : Diamètre d'inhibition en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Daucus crinitus</i> (2, 5 μ l).....	113
Tableau 20 : Diamètre d'inhibition* en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de <i>Docus crinitus</i> (2 et 5 μ l).....	115
Tableau 21 : Les activités antibactériennes des huiles essentielles de l'huile essentielle de <i>T. capitatus</i> sèche et fraîche, <i>D. crinitus</i> et <i>T. articulata</i> à l'aide de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	116

Liste des photos

Photo 1 : Attaques de <i>T. absoluta</i> sur feuillage	18
Photo 2 : <i>Thymus capitatus</i>	27
Photo 3 : <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl) Mast	29
Photo 4 : <i>Daucus crinitus</i> desf	32
Photo 5 : la tomate en plein champ	53
Photo 6 : Dispositifs d'élevage au laboratoire	55
Photo 7 : <i>Tetraclinis articulatas</i> dans la région d'Oudjlida	57
Photo 8 : <i>Thymus capitatus</i> dans la région d'El Moustakbale	58
Photo 9 : Montage d'hydrodistillation.....	59
Photo 10 : Extracteur de soxhlet	61
Photo 11 : Evaporateur rotatif (Originale).....	61
Photo 12 : Témoins réalisés par la méthode des puits.....	104
Photo 13 : Effet de H.E de <i>Thymus capitatus</i> sèche (5µL) contre cinq bactéries (Diamètre d'inhibition obtenu par la méthode de puits)	105
Photo 14 : Effet de H.E de <i>Thymus capitatus</i> fraîche (1µL) contre cinq bactéries (Ø= Halo d'inhibition obtenu par la méthode de puits).....	106
Photo 15 : Effet de H.E de <i>Thymus capitatus</i> sèche (1µL) contre cinq bactéries (Ø= zones d'inhibition obtenu par la méthode de diffusion sur gélose).....	108

Photo 16 : Effet de H.E de <i>Thymus capitatus</i> fraiche (1µL) contre cinq bactéries (Ø= Halo d'inhibition obtenu par la méthode de diffusion sur gélose).....	109
Photo 17 : Effet de H.E de <i>Tetraclinis articulata</i> contre cinq bactéries (Ø = zone d'inhibition obtenu par la méthode de puits)	111
Photo 18 : Effet de H.E de <i>Tetraclinis articulata</i> contre cinq bactéries (Ø = zone d'inhibition obtenu par la méthode de diffusion sur gélose).....	112
Photo 19 : Effet de H.E de <i>Daucus crinitus</i> (5µL) contre cinq bactéries (Ø = zone d'inhibition obtenu par la méthode de puits)	113
Photo 20 : Effet de H.E de <i>Daucus crinitus</i> (5µL) contre cinq bactéries (Ø = zone d'inhibition obtenu par la méthode de diffusion de puits)	114
Photo 21 :CMI des H.Es testées sur les cinq bactéries par microplaque	116

Liste des figures

Figure 1: Evolution des superficies et de la production de la tomate de 1999-2009 en Algérie (FAOSTAT, 2010)	8
Figure 2 : Répartition et distribution de la mineuse de tomate dans le bassin Méditerranéen (EPPO, 2010)	15
Figure 3 : Carte de la zone d'étude Hadjret El Gat (Remchi)	46
Figure 4 : Variation des moyennes mensuelles des précipitations	49
Figure 5: Variations des moyennes mensuelles des températures.....	50
Figure 6 : Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen de la station de Zennata (Période 2000-2010)	50
Figure 7 : Climagramme d'Emberger de la zone d'étude	52
Figure 8 : Principe de la méthode de diffusion des disques sur gélose	70
Figure 9 : Cycle de vie de <i>Tuta absoluta</i>	75
Figure 10 : Durée en jours du cycle biologique de <i>Tuta absoluta</i>	76
Figure 11 : Sex-ratio de <i>Tuta absoluta</i> à partir des élevages	77
Figure 12 : Durée moyenne de pupaison chez <i>Tuta absoluta</i> à partir des élevages.....	78
Figure 13 : Taux de mortalité larvaire chez <i>Tuta absoluta</i> à partir des élevages.....	78
Figure 14 : Taux de mortalité nymphale chez <i>Tuta absoluta</i> à partir des élevages	79
Figure 15 : Droite de régression entre les chrysalides et les adultes.....	80
Figure 16 : Droite de régression entre les larves et les chrysalides.....	80
Figure 17 : Droite de régression entre les larves et les adultes	81

Figure 18 : Effet de <i>T. capitatus</i> sur les différents stades de larves de <i>T. absoluta</i>	87
Figure 19 : Effet de <i>T. articulata</i> sur les différents stades de larves de <i>T. absoluta</i>	88
Figure 20 : Effet de l'hydrolat de <i>T.capitatus</i> sur les différents stades larvaires	89
Figure 21 : Effet de l'hydrolat de <i>T.articulata</i> sur les différents stades larvaires	90
Figure 22 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par <i>Thymus capitatus</i>	91
Figure 23 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par l'hydrolat de <i>Thymus capitatus</i>	92
Figure 24 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par l'hydrolat de <i>Tetraclinis articulata</i>	92
Figure 25 : Variabilité de population larvaire résiduelle par l'hydrolat de <i>Tetraclinis articulata</i>	93
Figure 26 : Comparaison des toxicités de <i>T.capitatus</i> et <i>T.articulata</i> sur les populations larvaires résiduelles	94
Figure 27 : Comparaison de la toxicité des hydrolats de <i>T.capitatus</i> et <i>T.articulata</i> sur les populations larvaires résiduelles	95

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
Partie I : Etude de la plante hôte	
1. Généralité.....	4
2. Classification botanique.....	4
3. Description morphologique de la plante.....	5
4. Exigences pédoclimatiques de la tomate.....	6
4.1. La température.....	6
4.2. La lumière.....	6
4.3. Eau et humidité relative.....	6
4.4. Sol, salinité et pH.....	7
5. Superficies et production de la tomate.....	7
5.1. Superficie et production de la tomate en Algérie.....	7
5.2. Superficie et production de la tomate dans la wilaya de Tlemcen et la commune de Remchi.....	8
6. Valeur nutritionnelle des fruits de la tomate.....	10
7. Importance médicinale de la tomate.....	11
8. Les techniques de culture et les principaux problèmes phytosanitaires en Algérie.....	11
Partie II : Le ravageur de la tomate (<i>Tuta absoluta</i> Meyrick)	
1. Généralité.....	13
1.1. Origine et distribution géographique de <i>Tuta absoluta</i>	13
1.2. En Algérie.....	14
2. Position systématique.....	16
3. Description morphométrique de <i>Tuta absoluta</i>	16
3.1. L'œuf.....	16
3.2. Les stades larvaires.....	17

3.3. La nymphe.....	17
3.4. L'adulte.....	17
4. Nature des dégâts.....	18
5. Méthodes de lutte contre <i>Tuta absoluta</i>	19
5.1. Les méthodes prophylactiques.....	19
5.2. Lutte chimique.....	19
5.3. Lutte Biotechnologique.....	20
5.4. Lutte intégrée.....	20
5.5. Lutte biologique.....	21

Partie III. Les huiles essentielles et les extraits de plantes étudiées

1. Définition.....	22
2. Propriété physique.....	22
3. Rôle physiologique.....	23
4. Composition chimique.....	23
4.1. Les terpènes.....	23
4.2. Les composés aromatiques.....	24
4.3. Les composés d'origines diverses.....	24
4.4. Notion de chémotype.....	24
5. Facteurs influençant la composition chimique.....	25
6. Etude botanique de trois plantes sélectionnées.....	26
6.1. <i>Thymus capitatus</i>	26
6.1.1. Description botanique et classification.....	26
6.1.2. Données phytochimiques.....	28
6.1.3. Utilisation médicinale.....	28
6.1.4. Importance écologique ; industriel et économique.....	28
6.2. <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl) Mast.....	29
6.2.1. Description botanique et classification.....	29

6.2.2. Données phytochimiques.....	30
6.2.3. Utilisation médicinale.....	30
6.2.4. Importance écologique ; industriel et économique.....	31
6.3. <i>Daucus crinitus</i> desf.....	32
6.3.1. Description botanique et classification.....	32
6.3.2. Données phytochimiques.....	33
6.3.3. Utilisation médicinale.....	33
7. Activité biologique.....	34
7.1. Activité insecticide.....	34
7.2. Activité antifongique.....	35
7.2.1. Souches fongiques utilisées.....	35
7.2.1.1. <i>Aspergillus niger</i>	35
7.2.1.2. Alternariose de la tomate.....	36
7.2.1.3. Fusariose de la tomate.....	36
7.2.1.4. <i>Pinicillium sp</i>	36
7.2.1.5. La pouriture grise.....	37
7.2.1.6. <i>Trichoderma sp</i>	37
7.2.2. Application des hydrolats dans les produits alimentaires (<i>in vivo</i>).....	38
7.3. Activité antimicrobienne.....	39
7.3.1. Souches bactériennes utilisées.....	40
7.3.1.1. <i>Acinetobacter sp</i>	40
7.3.1.2. <i>Flavobacterium sp</i>	41
7.3.1.3. <i>Bacillus sp</i>	42
7.3.1.4. <i>Pseudomonas sp</i>	43
7.3.1.5. <i>Erwinia sp</i>	44

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Partie I. Présentation de la zone d'étude

1. Situation géographique.....	46
2. Ressource en sol.....	47
3. Hydrologie.....	47
4. Etude climatique de la station.....	47
4.1. Précipitations.....	48
4.2. Températures.....	49
4.3. Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN (1953).....	50
4.4. Climagramme d'EMBERGER (1955).....	51

Partie II : Étude entomologique

1. Localisation de la station d'étude.....	53
2. Matériel végétal et dispositif expérimental sur le terrain.....	54
2.1. Echantillonnage.....	54
2.2. Elevage de l'insecte et cycle de développement.....	54
2.2.1. Matériel d'élevage.....	54
2.2.2. Méthode d'élevage.....	54
3. Etude statistique des données.....	55
3.1. Corrélacion et régression.....	55
3.2. Essai biologique.....	56
3.4. Estimation de la toxicité des traitements.....	56

Partie III : Étude phytochimique

1. Identification des plantes aromatiques.....	57
2. Extraction des huiles essentielles.....	58.
2.1. Calcul du rendement.....	59
2.2. Caractéristique des huiles essentielles.....	60

2.3. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM.....	60
3. Préparation des extraits.....	60
3.1. Calcul du rendement.....	61

Partie VI. Etude microbiologique

1. Matériel fongique.....	62
2. Tests de confirmation des souches fongiques.....	63
2.1. Isolement des moisissures à partir de la tomate.....	63
2.1.1. Méthode de dilution.....	63
2.1.2. Méthode d'Uister.....	63
2.2. Identification.....	63
2.2.1. Identification des genres.....	63
2.2.2. Identification des espèces fongiques.....	64
2.3. Conservation des souches fongiques.....	64
3. Etude de l'activité antifongique.....	64
3.1. Tests « <i>in vitro</i> » : activités antifongiques des huiles et des extraits du <i>Thymus capitatus</i> , <i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Daucus crinitus</i>	64
3.1.1. Protocole expérimental.....	65
3.1.2. Dépôt de disques.....	65
3.1.3. Lecture.....	65
3.2. Tests « <i>in vivo</i> » : activité antifongique des hydrolats de <i>Thymus capitatus</i> et <i>Tetraclinis articulata</i>	65
3.2.1. Protocole expérimental.....	66
4. Etude de l'activité antimicrobienne.....	66
4.1. Milieux de culture.....	66
4.2. Tests de confirmation des souches bactériennes.....	67
4.3. Tests biochimiques.....	68
4.4. Conservation des souches.....	68
4.5. Préparation de l'inoculum.....	69
4.5.1. Préparation de pré-culture.....	69

4.5.2. Préparation de la suspension bactérienne.....	69
4.6. Etude de l'activité antibactérienne.....	69
4.6.1. Tests « <i>in vitro</i> ».....	69
4.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	72

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Etude entomologique.....	74
1.1. Biologie des populations de <i>Tuta absoluta</i> à partir des élevages.....	74
1.1.1. Développement du stade imaginal.....	74
1.1.2. Longévité des stades adultes.....	76
1.1.3. Sex-ratio.....	77
1.1.4. Développement nymphal.....	77
1.1.5. Mortalité nymphale.....	78
1.1.6. Mortalité larvaire.....	79
1.2. Relation entre les caractères liés à l'infestation.....	79
1.2.1. Relation entre l'émergence des chrysalides et celle des adultes80
1.2.2. Relation entre l'émergence des chrysalides et celle des larves.....	80
1.2.3. Relation entre l'émergence des adultes et celle des larves.....	81
2. Etude phytochimique.....	82
2.1. Rendement des huiles essentielles de <i>T. capitatus</i> , <i>D. crinitus</i> et <i>T. articulata</i>	82
2.2. Analyse de la composition chimique.....	83
2.3. Résultats des extractions des trois plantes.....	86
3. Activité biologique.....	87
3.1. Activité insecticides.....	87
3.1.1. Effet de l'huile essentielle sur les différents stades larvaires.....	87
3.1.1.1. <i>Thymus capitatus</i>	87

3.1.1.2. <i>Tetraclinis articulata</i>	88
3.1.2. Effet de l'hydrolat des plantes sur les différents stades larvaires.....	89
3.1.2.1. <i>Thymus capitatus</i>	89
3.1.2.2. <i>Tetraclinis articulata</i>	90
3.1.3. Estimation de la toxicité des traitements.....	90
3.1.3.1. Huile essentielle et hydrolat de <i>Thymus capitatus</i>	90
3.1.3.2. Huile essentielle et hydrolat de <i>Tetraclinis articulata</i>	92
3.1.3.3. Comparaison entre la toxicité de deux huiles essentielles et les hydrolats sur les populations larvaires résiduelles.....	94
3.2. Activité antifongique « <i>in vitro</i> » des huiles essentielles.....	95
3.3. Activité antifongique « <i>in vitro</i> » des extraits de plantes.....	98
3.3.1. <i>Thymus capitatus</i>	98
3.3.2. <i>Tetraclinis articulata</i>	99
3.3.3. <i>Docus crinitus</i>	101
3.4. Activité antifongique « <i>in vivo</i> » des hydrolats de <i>T. capitatus</i> et <i>T. articulata</i>	102
3.5. Activité antimicrobienne « <i>in vitro</i> ».....	104
3.5.1. Aromatogramme.....	104
3.5.1.1. Essai avec H.E de <i>Thymus capitatus</i> par la méthode de diffusion en puits	104
3.5.1.1.1. HE de <i>Thymus capitatus</i> sèche.....	104
3.5.1.1.2. HE de <i>Thymus capitatus</i> fraîche.....	106
3.5.1.2. Essai avec H.E de <i>Thymus capitatus</i> par la méthode de diffusion sur disque de gélose	107
3.5.1.2.1. HE de <i>Thymus capitatus</i> sèche.....	108
3.5.1.2.1. HE de <i>Thymus capitatus</i> fraîche.....	109
3.5.1.3. Essai avec H.E de <i>Tetraclinis articulata</i> par la méthode de diffusion en puits.....	110
3.5.1.4. Essai avec H.E de <i>Tetraclinis articulata</i> par la méthode de diffusion sur disque de gélose.....	112
3.5.1.5. Essai avec H.E de <i>Daucus crinitus</i> par la méthode de puits.....	113

3.5.1.6. Test avec H.E des racines de <i>Daucus crinitus</i> par la méthode des disques.....	114
3.5.2. Concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	115
DISCUSSION.....	118
CONCLUSION GENERALE.....	130
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	135
ANNEXES.....	163

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) famille des solanacées, occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher en Algérie. Elle est considérée à juste titre comme une espèce prioritaire comme la pomme de terre, l'ail et l'oignon.

La culture de la tomate est pratiquée dans le monde entier. C'est une culture à cycle très court qui peut donner de hauts rendements, elle est économiquement importante. Une bonne production exige un certain nombre de bonnes conduites, d'abord culturales dont la protection, puis commerciales pour couvrir les besoins du marché national et améliorer la qualité du produit, car la tomate est sujette à plusieurs problèmes liés à la production, à la protection, à la commercialisation, au conditionnement et à la transformation.

La tomate occupe une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne. Près de 33000 ha sont consacrés annuellement à la culture de la tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (**M.a.d.r., 2009**). Ces derniers demeurent faibles et assez éloignés de ceux enregistrés dans d'autres pays du Bassin méditerranéen (Tunisie, Maroc, Espagne, France, Italie) producteurs de tomate, où les rendements varient entre 350 Qx/ha à 1500 Qx/ha (**FAO, 2008**).

Depuis 2008, cette culture est attaquée par la mineuse *Tuta absoluta* (un microlépidoptère de 6 à 7 mm)) dont la larve provoque d'importants dégâts sur les feuilles, les tiges et les fruits de la tomate ; ces dommages peuvent atteindre 100% de pertes dans certains cas (**INPV, 2008**). Elle se développe également sur d'autres espèces cultivées telles que l'aubergine, la pomme de terre, le poivron ainsi que d'autres solanacées. La première déclaration de la présence de *Tuta absoluta* a été faite en Argentine vers 1964 ; par la suite, sa présence a été déclarée dans d'autres pays de l'Amérique latine. Ce ravageur s'est propagé rapidement depuis 2006 vers le sud de l'Europe et l'Afrique du Nord et l'ensemble des pays méditerranéens (**Desneux et al., 2010**). La principale méthode de lutte contre *Tuta absoluta* est la pulvérisation des insecticides, nocifs pour l'homme et l'environnement (**Picanc et al., 1998**).

En raison du comportement alimentaire des chenilles qui les protège des applications phytosanitaires et des cas de résistance importants à certains insecticides, la lutte contre ce ravageur s'avère particulièrement difficile (**Lacordaire et Feuvrier, 2010**).

INTRODUCTION

Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives et de nouveaux produits sont constamment recherchés. Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de nouvelles alternatives de lutte contre les ravageurs est d'avantage encouragée (**Bouchelta et al., 2005**).

Les substances naturelles ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activité biologique ; reconnues comme bactéricides, fongicides, acaricides, nématicides, etc., elles peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement (**Paster et al., 1990 ; Caccioni et al., 1994 ; Cowan, 1999 ; Nielsen et al., 2000 ; Lamiri et al., 2001 ; Cimanga et al., 2002**).

Au cours de ces dernières années, l'augmentation de la demande du consommateur pour des produits « bio » naturels, sans conservateurs, a conduit l'industrie à envisager l'incorporation de substances considérées comme « non chimiques ». Ainsi de nombreux composés phytochimiques y compris les huiles essentielles, commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et anticancéreux.

La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui attire l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par utilisation de substances naturelles d'origine végétale comme insecticides (**Barbouche et al., 2001**) ; (**Boriky, 2005**) ; (**Tail et al., 2006**) ; (**Khalfi -Habes et al., 2009**) ; (**Tchoumboungang et al., 2009**) ; (**Boutaleb Joutei, 2010**) ; (**Mokrini et al., 2010**).

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps ; en effet, la nicotine est déjà connue comme agent de lutte contre les insectes (**Crosby, 1966 ; Bieber, 2003**). Dans des travaux encore plus récents, les propriétés insecticides de certaines plantes ont été testées sur les larves d'insectes de *Tuta absoluta* par **Ait Taadaouit et al. (2011)** au Maroc.

En Algérie, les études menées sur l'activité insecticide des extraits végétaux vis-à-vis des larves de lépidoptères sont très limitées. Une seule étude a été publiée sur l'effet des extraits aqueux sur les larves de *Tuta absoluta* (**Allal-Benfekih, 2011**). En revanche, aucune étude n'a été publiée jusqu'à présent en Algérie sur l'effet des huiles essentielles, des hydrolats et des extraits sur les différents stades larvaires de la mineuse, les moisissures et les bactéries qui attaquent les tomates.

INTRODUCTION

C'est dans cette optique que se situe ce travail qui consiste en l'étude de l'activité larvicide, antifongique, antimicrobienne de l'huile essentielle, des extraits et des hydrolats de trois plantes aromatiques : *Thymus capitatus*, *Daucus crinitus* et *Tetraclinis articulata* et à déterminer les effets de chacun d'eux sur les larves de *Tuta absoluta* afin de :

- sécuriser au mieux la production des cultures en réduisant les dégâts causés par ce ravageur ;
- réduire l'utilisation des pesticides conventionnels et par conséquent, limiter les effets néfastes de ces derniers sur l'environnement et la santé humaine ;
- encourager et valoriser la production des cultures biologiques en Algérie.

Pour cela, une caractérisation de la composition chimique des huiles essentielles de ces trois plantes est effectuée pour étudier leurs activités biologiques vis-à-vis des larves de *Tuta absoluta*, de cinq souches bactériennes et de sept espèces fongiques.

Le mémoire est structuré d'une manière classique :

-le premier chapitre est une synthèse bibliographique comportant quatre parties: la première est consacrée à la plante hôte (tomate), la deuxième au ravageur de la tomate (*Tuta absoluta*), la troisième aux huiles essentielles et les extraits des plantes étudiées ; puis nous avons terminé le chapitre par la présentation des activités biologiques à savoir l'activité insecticide, antifongique et antibactérienne.

-Le second chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés lors de ce travail. La première partie consiste en la présentation de la région d'étude avec toutes ses caractéristiques bioclimatiques ; la deuxième partie est consacrée à l'étude entomologique et statistique, la troisième à l'étude phytochimique et la dernière à l'étude microbiologique.

Les résultats obtenus sont présentés de manière séparée puis synthétique dans le troisième chapitre. Ils sont discutés au regard des données de la littérature.

Enfin, une conclusion générale clôture ce travail avec une synthèse des principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives que nous proposons.

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE I: ETUDE DE LA PLANTE HOTE**1. Généralités**

La tomate *Lycopersicum esculentum* Mill. est, après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde (**Pitrat et Foury, 2003**). Elle est cultivée sous toutes les formes de cultures possibles (plein champ, sous abris...), sous toutes les latitudes et dans tous les pays (**Philouze et Laterrot, 1992**) ; la production mondiale ne cesse de progresser. Elle est passée de 100 millions de tonnes en 2000 (**Pitrat et Foury, 2003**) à 126 millions de tonnes en 2007 (**Faostat, 2008**) et environ 141,4 millions de tonnes de fruits frais sur une superficie évaluée à 4,98 millions d'hectares en 2009 (**Faostat, 2010**). La production globale a augmenté de 300% durant les quatre dernières décades (**Costa et Heuvelink, 2000**).

La tomate est originaire des Andes (Amérique du sud), son introduction pour la première fois en Europe date de 1544 (**Naika et al., 2005**). Sa culture s'est ensuite propagée en Asie du sud et de l'est, en Afrique et au Moyen Orient. En Algérie, elle fut introduite pour la première fois par les Espagnols en 1905 dans la région oranaise (**Rey et Coste, 1965**).

Comme c'est une culture à cycle court, elle peut donner de hauts rendements, de bonnes perspectives économiques et la superficie cultivée s'agrandit de jour en jour (**Naika et al., 2005**). Il existe plus de 4000 variétés de tomates, certaines sont résistantes aux maladies et à d'autres facteurs (biotiques et abiotiques), d'autres sont différentes par les caractéristiques de leurs fruits, leur précocité et le port de la plante (**Van Eck et al., 2006**).

2. Classification botanique

C'est un botaniste Suédois Linnaeus qui lui a donné le nom *Solanum Lycopersicon* en 1753, mais 15 ans plus tard, Phillip Miller lui a donné le nom de *Lycopersicon esculentum* qui signifie en Grec « Pêche du loup comestible » (**Benton, 1999 ; Pitrat et Foury, 2003**).

La tomate dont le nom scientifique *Lycopersicum esculentum* Mill, appartient à la famille des Solanaceae, à la sous-famille des Solanoidae et à l'ordre des Solanae (**Costa et Heuvelink, 2005**). Cette famille inclut des cultures végétales importantes telles que la pomme de terre, le poivron, piment, aubergine et tabac.

La classification de la tomate est la suivante :

Embranchement : Anthophyta

Classe : Dicotyledon

Ordre : Solanae

Famille : Solanaceae

Genre : Lycopersicum

Espèce : *Lycopersicum esculentum*

3. Description morphologique de la plante

En Amérique du sud, la plante est considérée comme pluriannuelle (**Naika et al., 2005**), mais le plus souvent, elle est conduite comme annuelle, cultivée pour son fruit comestible (**Papadopoulos, 1991**). Il existe cependant deux types de croissance : la croissance déterminée et la croissance indéterminée.

La plante forme un bouquet de fleurs toutes les trois feuilles, mais il existe des plantes dont la fonction végétative s'arrête précocement. La plante a un port dressé en début de croissance, puis il devient retombant ou semi-retombant au fil de la croissance et de la ramification des tiges, ce qui nécessite des supports variables selon les types de cultures.

Les principaux organes de la plante sont :

* **Les racines** : la tomate possède un système racinaire pivotant qui pousse jusqu'à une profondeur de 50cm. Selon **Papadopoulos (1991)**, la racine principale produit une forte densité de racines secondaires et adventives.

* **La tige** : le port de croissance varie entre érigé et prostré. La tige est pleine, fortement poilue et glandulaire poussant jusqu'à 2m de hauteur.

* **Les feuilles** : les feuilles disposées de façon alternée, ont de 15 à 50cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovales à oblongues couvertes de poils glandulaires.

* **Les fleurs** : l'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs ; le pétiole mesure entre 3 et 6 cm. Les fleurs bisexuées sont régulières et mesurent entre 1,5 et 2 cm de diamètre. Elles poussent soit opposées aux feuilles soit entre elles. Les sépales sont persistantes ; en général, la plante est autogame (**Papadopoulos, 1991 ; Naika et al., 2005**) mais la fécondation croisée peut avoir lieu.

* **Le fruit** : est une baie charnue généralement à deux loges, de forme globulaire, qui varie entre 2 à 15 cm. A maturité, sa couleur varie du jaune au rouge en passant par l'orange. Les fruits ont des formes différentes selon la variété (rondes ou côtelées). Les graines sont petites (250 à 300 graines /gramme), poilues, de couleur beige, en forme de rein. On estime le poids de 1000 graines entre 2,5 à 3,5g (**Naika et al., 2005**).

4. Exigences pédoclimatiques de la tomate

4.1. La température

La température est le facteur le plus déterminant pour la production de la tomate car la culture réagit fortement aux variations thermiques (**Lambert, 2006**). La température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21°C et 24°C. La croissance, la floraison et la fructification sont favorisées par un écart thermique de 10°C entre le jour et la nuit. Le gel qui survient après la plantation tue les plantes, c'est pourquoi il faut attendre la fin de l'hiver pour la culture en plein champs.

4.2. La lumière

La lumière est un facteur écologique fondamental qui intervient dans la qualité de la photosynthèse. Le manque de lumière peut inhiber l'induction florale et gêner la germination du pollen (**Chibane, 1999**). La photopériode et l'intensité lumineuse sont des facteurs limitants pour la culture (**Benton, 1999**).

4.3. Eau et humidité relative

La tomate exige beaucoup d'eau, ce qui nécessite une irrigation régulière en évitant l'asphyxie radriculaire (**Schiffers, 2003 ; Leboeuf et al., 2008**). Le stress causé par une carence en eau sur de longues périodes provoque la chute des bourgeons et des fleurs ainsi que le fendillement des fruits. Les risques sont importants lorsque les averses sont très

intenses. Une humidité très élevée entraîne la pourriture des fruits (Lacroix, 1998 ; Lambert, 2006). Selon Guenaoui (2008), les exigences climatiques de la tomate sont malheureusement celles qui favorisent le développement des bioagresseurs de la culture.

4.4. Sol, salinité et pH

La tomate aime les sols profonds, meubles, bien aérés, bien drainés et riches en humus. Une texture sablonneuse ou sablo-limoneuse est préférable (Huat, 2008). La tomate est classée parmi les plantes à tolérance modérée vis-à-vis de la salinité, car elle peut supporter une salinité allant jusqu'à 2-3mmho/cm (Morard et Martinez, 1999). Sa tolérance vis-à-vis de l'acidité est très élevée. La tomate pousse mieux dans les sols où le pH varie entre 5,5 et 6,8 avec un approvisionnement en éléments nutritifs suffisant (Lacroix, 1998 ; Naika, et al., 2005).

5. Superficies et production de la tomate

5.1. Superficies et production de la tomate en Algérie

La tomate est l'une des productions maraichères les plus cultivées en Algérie. En 1999, sur une superficie de 55210ha, la production était de 945,8 milles tonnes. Entre 2006 et 2007, la production atteint 796,1milles tonnes. En 2008, on note une réduction qui a ramené les superficies à 19655 ha (Faostat, 2010). L'apparition du ravageur invasif de la tomate *Tuta absoluta* a provoqué des pertes de rendement au niveau des serres mais également sur la culture en plein champ (INPV, 2008).

Les statistiques de l'année 2009 établies par le ministère de l'agriculture algérienne font état d'une superficie globale de tomate cultivée de 20789 ha dont 18620 ha sont consacrés à la tomate en plein champs (Fig. 1). La production totale de la tomate maraichère est de 641 milles tonnes, avec 446,03 milles tonnes pour la culture en plein champs, plus élevée par rapport à la culture sous serre (195,95 milles tonnes) d'après la Direction des Services Agricoles (DSA, 2010).

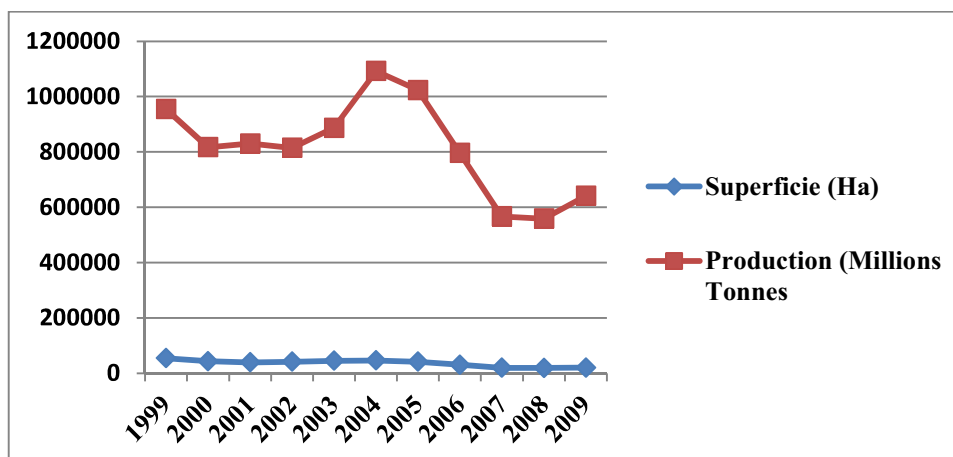


Figure 1: Evolution des superficies et de la production de la tomate de 1999-2009 en Algérie (Faostat, 2010)

5.2. Superficies et production de la tomate dans la wilaya de Tlemcen et la commune de Remchi

D'après les données de la Direction des Services Agricoles de la Wilaya de Tlemcen (**D.S.A, 2013**), la production totale des tomates en plein champs (**Tab.1**) dans la wilaya de Tlemcen est de 1446640 Qx sur une superficie de 7809 ha, pour la période 2003-2013, avec un rendement de 185.25Qx/ha.

Ainsi, la production des tomates en plein champs dans la commune de Remchi est de 25950 Qx sur une superficie de 142 ha pour la période 2003-2013 avec un rendement de 182.74Qx/ha (**Tab.1**).

Tableau 1: Valeurs de la superficie et la production de la tomate dans la commune de Remchi et la wilaya de Tlemcen

Compagne agricole	Commune/Wilaya	Tomate de plein champ	
		Surface (Ha)	Production (QX)
2003-2004	Remchi	40	7200
	Wilaya Tlemcen	816	106300
2004-2005	Remchi	40	6000
	Wilaya Tlemcen	812	113540
2005-2006	Remchi	2	200
	Wilaya Tlemcen	782	146000
2006-2007	Remchi	5	600
	Wilaya Tlemcen	699	98000
2007-2008	Remchi	-	-
	Wilaya Tlemcen	718	95800
2008-2009	Remchi	7	0
	Wilaya Tlemcen	727	123200
2009-2010	Remchi	5	2000
	Wilaya Tlemcen	899	171000
2010-2011	Remchi	8	150
	Wilaya Tlemcen	725	171500
2011-2012	Remchi	15	2000
	Wilaya Tlemcen	791	199300
2012-2013	Remchi	20	7800
	Wilaya Tlemcen	840	222000
Total de la surface et production(2003-2013)	Remchi	142	25950
	Wilaya Tlemcen	7809	1446640
Moyenne de surface et production (2003-2013)	Remchi	15.77	3243.75
	Wilaya Tlemcen	780.9	144664
Rendement (Qx/Ha), (2003-2013)	Remchi	182.74	
	Wilaya Tlemcen	185.25	

6. Valeur nutritionnelle des fruits de la tomate

La consommation de la tomate constitue un régime sain et équilibré. **Saettel (2000) et Favier et al. (2003)** donnent une composition du fruit qui permet d'apprécier le taux des éléments importants (**Tab.2**) ; ainsi, pour 100g de fruits, il y a 94% d'eau, le reste est constitué de protéines, de lipides, de glucides (5%) et de fibres totales (1,1%) ; la tomate est surtout riche en minéraux et en vitamine A, C, E, B1, B2, B3, B5, B6, B12. De plus, elle est très riche en carotènes, lycopes et autres composés qui ont un rôle important pour prévenir les cancers des poumons, de l'estomac et de la prostate (**Thomas, 2008**). Il ajoute que ces principales qualités font d'elles un régime alimentaire très apprécié.

Tableau 2 : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de tomate (Favier et al., 2003)

Comportement de la tomate crue valeur nutritionnelle de 100 grammes		
Eau		93.80g
Valeur calorique		19 K cal
Eléments énergétiques	Protides	0.80g
	Glucides	3.50g
	Lipides	0.30g
Vitamines	Vitamine A	0.00mg
	Vitamine B1	0.06mg
	Vitamine B2	0.05mg
	Vitamine B6	0.00mg
	Vitamine C	18.00mg
	Vitamine PP	0.60mg
Minéraux	Fer	0.40mg
	Calcium	9.00mg
	Magnésium	11.00mg
	Phosphore	24.00mg
	Potassium	226.00mg
	Sodium	5.00mg
	Soufre	11.00mg
	Zinc	0.24mg
	Chlore	40.00mg
Fibres		1.20g
Cellulose		0.60g

Les teneurs maximales en vitamine C (18mg et plus) se rencontrent dans les tomates de pleins champs et en pleines saisons, c'est un apport appréciable, puisque le besoin quotidien de l'adulte est de 80mg (**De Broglie et Guérault, 2005**).

La tomate est également riche en lycopènes ce qui lui donne sa couleur rouge, cet antioxydant diminuerait le risque de maladies cardiaques et certaines formes de cancer dont celui de la prostate (**De Broglie et Guérault, 2005**).

7. Importance médicinale de la tomate

Le rôle médicinal de la tomate est connu depuis bien longtemps chez les Incas en Amérique du sud, où ils utilisaient la feuille fraîche du plant de tomate comme un antibiotique (**Johnson, 2005 ; Mittelstra et al., 2006**).

Selon les mêmes auteurs, la consommation de la tomate joue plusieurs rôles :

- un antifatigue en accélérant la formation du sucre dans le sang ;
- elle diminue l'hypertension grâce à son haut taux de potassium ;
- excellente pour la santé du foie, car elle contient des traces d'éléments antitoxiques appelés chlorites et sulfures ;
- grâce à sa valeur acidulée, la tomate stimule les sécrétions digestives ;
- La tomate contribuerait à la prévention des maladies cardiovasculaires, l'artériosclérose et la cécité ;
- La tomate joue un rôle dans la prévention du cancer grâce à sa teneur en pigments caroténoïdes, antioxydants et notamment sa forte concentration en lycopènes (3.5mg/125g de tomate).

8. Les techniques de culture et les principaux problèmes phytosanitaires en Algérie

La culture de la tomate fait appel à diverses techniques : la culture de plein champs, sous abri léger (plastique non chauffé), en serre conditionnée, culture hydroponique pour des raisons de

pollution du sol (nématodes, ...etc). Les variétés commercialisées en Algérie sont nombreuses mais c'est les variétés Tafna et Marmande qui sont cultivées dans le Nord-Ouest algérien.

La culture de la tomate a plusieurs ennemis qui provoquent des pertes plus ou moins importantes selon les saisons et les conditions de culture. Les maladies peuvent anéantir les récoltes en absence de lutte efficace. Les ennemis sont nombreux et d'origines diverses :

-Les facteurs abiotiques (non parasitaires) : ce sont des facteurs non infectieux et non transmissibles d'une plante altérée à une plante saine. Ils peuvent être d'origine climatique (froid, insolation, fortes précipitations, vents...etc.) ou d'origine édaphique (carences en éléments, excès, déséquilibres ioniques...etc.) (**Haougui, 1998**).

-Les facteurs biotiques : sont nombreux et d'origines variées ; ce sont essentiellement les mauvaises herbes, les maladies parasitaires, les bactérioses [le chancre bactérien (*Clavibacter michiganensis*), le feu bactérien (*Xanthomonas campestris*pv.*vesicatoria*), flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*), ...etc.] , les maladies cryptogamiques ou mycoses (alternariose, mildiou, fusariose, verticilliose, le mal blanc, oïdium, anthracnose et la pourriture grise provoquée par *Botrytis cinerea*) ; les ravageurs (nématodes, acariens, limaces et escargots) et les virus (TMV, TSWV, PVMV, TYLCV).

En Algérie, en plus des insectes et des acariens, il existe des maladies comme le mildiou (*Phytophthora infestans*) et d'autres cryptogames qui peuvent causer des dégâts sur la tomate comme l'anthracnose, l'oïdium, la fusariose et la verticilliose (**Rekad et al., 2010**). Un grand nombre de déprédateurs (Arthropodes) sont recensés parmi lesquels les insectes comme les pucerons, les aleurodes, les thrips et les mineuses, qui sont les espèces les plus rencontrées (**Guenaoui, 2010**).

Depuis 2008, c'est l'insecte *Tuta absoluta* qui est devenu le problème majeur car les dégâts que ce ravageur provoque sont considérables.

PARTIE II : LE RAVAGEUR DE LA TOMATE

*(Tuta absoluta*Meyrick)

1. Généralités

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) communément appelée mineuse de la tomate est un insecte oligophage, décrit pour la première fois en 1917 par Meyrick qui lui donna le nom de *Phthorimaea absoluta*. L'insecte fut classé plus tard dans le genre *Scrobipalpuloides* (Ferreira, 2008 ; Guenaoui, 2008). Ce ravageur s'attaque exclusivement aux solanacées (Lietti et al., 2005). Dans de bonnes conditions climatiques, *Tuta absoluta* pourrait s'attaquer à la culture de pomme de terre (Pereyra et Sanchez, 2006), le poivron (Guenaoui, 2008), l'aubergine et d'autres plantes spontanées comme *Solanum nigrum* L. (Estay, 2000).

Cette mineuse est considérée comme l'un des ravageurs les plus importants de la tomates (Bogoni et al., 2003 ; Pires, 2008) ; elle constitue un facteur limitant du développement de la culture puisqu'elle peut causer entre 70% et 100% de pertes de production (Pratissoli et Parra, 2000 ; Borgoni et al., 2003 ; Oliviera et al., 2007 ; Urbaneja et al., 2008 ; Guenaoui et Ghelamallah, 2008). Les attaques se produisent sur toute la partie aérienne (feuilles, fleurs, tiges et fruits) (Filho et al., 2000 ; Marchiori, 2004 ; Guenaoui et Ghelamallah, 2008).

1.1. Origine et distribution géographique de *Tuta absoluta*

Comme la tomate, ce prédateur est originaire d'Amérique du sud (Siquiera et al., 2000). L'insecte s'est rapidement propagé sur l'ensemble des pays de l'Amérique latine depuis le début des années soixante en devenant le ravageur le plus dévastateur de la tomate.

Actuellement, sa présence est signalée dans tous les pays de l'Amérique du sud (Picanco et al., 1999 ; Pratissoli et Parra, 2000 ; Magalhaes, 2001 ; Torres et al., 2002 ; Leite et al., 2003). De son aire d'origine (Venezuela, Argentine, Chili), la mineuse s'est dispersée également en Amérique centrale (Marin et al., 2002). Sa zone s'est agrandie depuis qu'elle a été interceptée pour la première fois en Espagne en 2006 sur des cultures de tomate dans la

province de Castellon, puis en 2007 sur plusieurs sites dans la province de Valencia (**Urbaneja et al., 2007 ; OEPP, 2008a**).

Dans la région du Maghreb, ce ravageur a été observé pour la première fois en Algérie en mars 2008 (**Guenaoui, 2008 ; OEPP, 2008b**), puis en mai 2008 dans la région de Nador au Maroc (**OEPP, 2008c**). En septembre 2008, il a été signalé en Tunisie (**OEPP, 2009a**) puis au Libye en juillet 2009 (**OEPP, 2009b**). En l'espace de 16 mois, l'insecte a parcouru toute la côte du Maghreb.

Son passage vers les pays du sud de l'Europe a pu se faire soit par l'Espagne soit par le Maghreb. L'insecte a été repéré pour la première fois en Italie à Calabria en 2008 (**OEPP, 2010a**), et en début 2009 dans la région de Naples et Malte (**Bernardo, 2009 ; Mallia, 2009**). Cet insecte a été signalé en France en octobre 2008 dans la région de Provence Alpes Côte-d'Azur, Bouches du Rhône et en Corse (**Decoin, 2010 ; Lacordaire et Feuvrier, 2010**).

Il a été détecté dans la même période aux Pays Bas et dans le Royaume-Uni, à l'issue de l'importation des tomates sous emballage en Provence d'Espagne (**Korycinska et Moran, 2009**).

Le ravageur a poursuivi sa dispersion en fin 2009 dans d'autres pays d'Europe (Bulgarie, Chypre et Allemagne) (**OEPP, 2010a ; Kehlenbeck et al., 2010**), puis en février 2010 en Hongrie (**OEPP, 2010b**).

Les services phytosanitaires de la région de Kaliningrad en Russie ont communiqué le premier signalement de *T. absoluta* en mai 2009 dans des échantillons prélevés à partir de plusieurs lots de tomates importés d'Espagne (**Pretson, 2009**). L'insecte a aussi été observé en août 2009 en Turquie dans la Province d'Izmir sur cultures de tomate (**Kilic, 2010**).

1.2. En Algérie

La découverte du ravageur pour la première fois en Algérie a été réalisée dans la région de Mostaganem en mars 2008 sur tomate sous abris en plastique dans la commune de Mazagan, limitrophe de celle de Stidia (**Guenaoui, 2008**). Après obtention d'adultes à partir de larves âgées, son identification a été confirmée en avril 2008 en collaboration avec l'équipe de recherche à l'Université Polytechnique de Valence en Espagne (**Guenaoui : Com. Pers.**).

En fin juin 2008, l'INPV a adressé des échantillons au laboratoire faunistique de Montpellier pour l'identification. Celui-ci a confirmé en début juillet 2008 l'identification de l'insecte

comme étant *Tuta absoluta* grâce à l'examen des genitalia d'adulte mâles. Ce qui a permis aux chercheurs de l'INPV de Montpellier de diffuser la première photo des genitalia de l'insecte trouvé en Algérie dans la galerie OEPP sur www.tutaabsoluta.fr (GuenauCom.Pers., 2010) à côté d'une vingtaine de photos des différents stades de la mineuse (Guenau et Ghelamallah, 2008).

En juillet 2008, la comparaison de genitalia mâles de *Phthorimeae operculele* Zeller (teigne de la pomme de terre) et *T. absoluta* sur tomate a montré une différence entre les deux espèces (Badaoui et Berkani, 2009).

La dissémination de l'insecte invasif s'est poursuivie d'abord sur tout le littoral et la région sublittorale (Boumerdès, Tipaza, Chlef, Jijel, Bejaia, Skikda, El Taref, Annaba et Alger). Du fait que le ravageur a trouvé les conditions favorables à sa propagation (zones agricoles maraichères dans les régions intérieures et dans le sud du pays), il a été signalé plus tard à Blida, Batna, El Oued, Ouargla et Adrar (Fig.2).

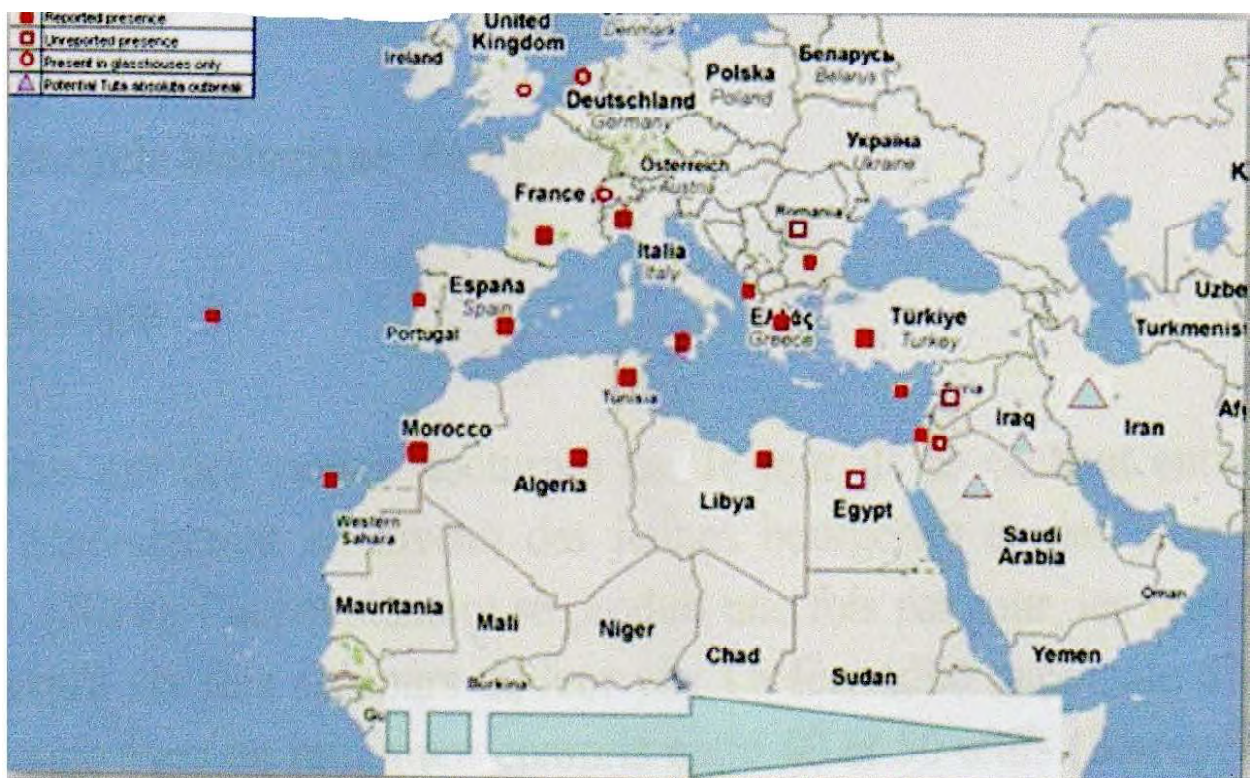


Figure 2 : Répartition et distribution de la mineuse de tomate dans le Bassin méditerranéen (EPPO, 2010)

2. Position systématique

Embranchement : Arthropodes

Classe : Insectae

Ordre : Lepidoptera

Famille : Gelechiidae

Genre : Tuta

Espèces : *Tuta absoluta* (Meyrick).

3. Description morphométrique de *Tuta absoluta*

On distingue quatre phases de développement du ravageur : l'œuf, 4 stades larvaires, le stade nymphal (chrysalide) et le stade imaginal (adulte).

3.1. L'œuf

L'œuf est de forme elliptique, mesure 0,2mm de diamètre et 0,4 mm de long (**Marcano, 2007 ; Korycinska et Moran, 2009**). Les œufs sont généralement déposés isolément, plus rarement par paquets. Ce comportement (œufs isolés) augmente les dommages potentiels du ravageur puisque le nombre des plants infectés est plus important (**Lopez, 1991**).

Selon **Estay (2000)**, la ponte a lieu le plus souvent sur la face inférieure des feuilles(73% des cas), sur les nervures et la tige (21%) et seulement 6% des œufs se trouvent sur les fruits verts. Pendant l'embryogénèse, les œufs ont une couleur blanc-jaunâtre, puis ils virent à l'orange-cuivré. A l'approche de la sortie de la larve néonate, l'œuf devient plus foncé (**Torres et al., 2001**).

La fécondité potentielle varie entre 250 et 300 œufs par femelle mais les conditions de culture peuvent influencer sur le potentiel biotique (**Vilela De Resende, 2003 ; Pereira, 2005 ; Molla et al., 2008**) ; très souvent la ponte réelle est de 50 œufs en moyenne.

3.2. Les stades larvaires

Après une période d'incubation très variable en fonction de la température ambiante, les jeunes chenilles émergent en cherchant un endroit par lequel elles peuvent pénétrer dans la plante; elles présentent une bande noire derrière la tête (**Ramel, 2010**).

Le développement passe par quatre stades larvaires. La larve du premier stade mesure entre 0,6 et 0,8mm de long ; elle est de couleur crème avec une tête noire, elle est munie de 3 paires de vrais pattes et de 5 paires de fausses pattes qu'on appelle pseudopodes.

Vargas (1970) indique que le deuxième stade larvaire ressemble au premier stade en taille mais change de couleur, il passe à la couleur blanche au moment de la mue. La taille moyenne de la larve à la fin du deuxième stade est de 2,80 mm (**Silva, 2008 ; Molla et al., 2008**).

La larve du troisième stade est de couleur gris blanchâtre puis elle passe au vert, avant de passer au quatrième stade elle devient blanchâtre ; sa taille est d'environ 4,7mm. Au quatrième stade apparaît une tache rougeâtre dorsale qui s'étend des ocelles jusqu'à la marge postérieure. A la fin de son développement, elle peut atteindre 9mm. Les larves cessent de s'alimenter pour se nymphoser (**Korycinka et Moran, 2008 ; Stol et al., 2009**). A la fin du quatrième stade, les larves se réfugient soit dans le sol soit dans les feuilles où elles tissent un cocon blanchâtre (**Torres et al., 2001 ; Silva, 2008 ; Stol et al., 2009**).

3.3. La nymphe

La chrysalide (stade nymphal), phase de transformation, est de forme cylindrique, plus large à l'extrémité antérieure ; de couleur verte au début, elle vire au brun foncé à l'approche de l'émergence (**Estay, 2002**). Elle mesure entre 4 et 6mm de long et de 1,2 à 1,4mm de diamètre (**Marcano, 2007**). La plupart du temps elle est enveloppée par un cocon de soie blanche (**Apablaza, 1990**).

3.4. L'adulte

Les adultes mesurent 6-7 mm de long et environ 10mm d'envergure. Ils sont gris-argentés avec des taches noires sur les ailes antérieures. Les antennes sont filiformes mesurant 5/6^{ème} des ailes (**Silva, 2008 ; Mallia, 2009**). Les femelles ont l'abdomen brun crémeux, plus large et plus volumineux que les males (**Estay et Bruna, 2002**) ce qui fait la différence de taille.

4. Nature des dégâts

Toutes les parties aériennes de la plante (feuilles, bourgeons, fleurs, tiges et fruits) peuvent être infestées par *T. absoluta*, avec la présence de tous les stades du ravageur tout au long de la saison (Torres et al., 2002).

Les dégâts commis sont très importants, surtout au niveau du feuillage (**Photo 1**). Les larves pénètrent entre les deux épidermes de la feuille et se nourrissent à partir des cellules du parenchyme à l'aide de leurs crochets mandibulaires, entraînant la destruction d'une grande partie de la surface foliaire de la plante. On aperçoit des galeries transparentes avec des excréments bruns (Suinaga et al., 2004 ; Collavino et Gimenez, 2008 ; Silva, 2008). Les feuilles minées deviennent nécrotiques et endommagent les plantes en réduisant leur taille et en provoquant la carence de leur croissance. Les plants de tomate peuvent être attaqués à tous leurs stades de développement, du stade juvénile jusqu'à la maturité (Guenoui et Ghelamallah, 2008). Les attaques affectent aussi la capacité photosynthétique de la plante et diminuent le rendement (Desneux, et al., 2010).

Les dégâts au niveau des tiges entraînent une fragilité de la plante (Mallia, 2009). Selon Pereira (2005) et Collavino et Gimenez (2008), les dommages se traduisent par une réduction de la capacité de production de la plante, une baisse des boutons floraux, la chute des fruits attaqués par les larves, la pourriture provoquée par les blessures et les pertes de production qui peuvent atteindre 100% (Pereira, 2005 ; Collavino et Gimenez, 2008). Les attaques de la mineuse peuvent être foudroyantes en décimant toute la culture en quelques semaines (INPV, 2011).



Photo 1 : Attaques de *T. absoluta* sur feuillage de tomate

5. Méthodes de lutte contre *Tuta absoluta*

Plusieurs méthodes sont appliquées pour lutter contre ce ravageur afin de réduire son impact sur les productions de la tomate. Un aperçu sur ces techniques permet de constater qu'il n'y a pas de méthode miracle, car chacune présente des avantages et des inconvénients sans pour autant permettre l'éradication complète du ravageur (**Pereira, 2008 ; Silva, 2008**). Les différentes approches sont souvent complémentaires.

5.1. Les méthodes prophylactiques

En Algérie, l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) a adressé aux agriculteurs en 2008, une liste de précautions à prendre:

- utilisation de plants indemnes, éliminer systématiquement les plants atteints ;
- élimination des organes atteints en les mettant dans des sacs noirs et en les exposants au soleil ;
- entretien cultural par désherbage, à l'intérieur et aux alentours des serres cultivées, pour éliminer les refuges naturels recherchés par les insectes ravageurs ;
- installation d'un filet Insect-Proof, c'est la méthode la plus sûre, elle permet d'empêcher toute infiltration d'insectes dangereux nocifs aux cultures ;
- tuteurage avec des fils métalliques ou en plastique.

5.2. Lutte chimique

La lutte chimique contre l'insecte fait appel aux insecticides dont l'utilisation a connu un essor très important avec le progrès de la chimie de synthèse. Elle est basée sur l'application de molécules détruisant ou limitant les populations de bioagresseurs (**Dore et al., 2006**).

Elle constitue la principale technique de contrôle menée contre ce ravageur. Elle est utilisée en Amérique latine avec une fréquence élevée (**Silva, 2008**).

En Algérie, la lutte chimique est la plus utilisée contre tous les ennemis des cultures. Les producteurs de la tomate ont eu recours en priorité à l'usage de produits chimiques car l'invasion de la mineuse a été très rapide, ce qui n'a pas permis de mettre en œuvre d'autres moyens de lutte moins polluants. Malheureusement, la lutte chimique n'a pas permis d'éradiquer l'insecte (**INPV, 2011**).

Le contrôle chimique du ravageur est difficile en raison de la biologie et du comportement alimentaire des larves. L'application de la lutte chimique avec la même molécule a entraîné le développement d'une résistance toujours croissante dans un grand nombre de pays (**Cabello et al., 2009a**).

5.3. Lutte biotechnologique

C'est la mise en place de piègeages massifs, à raison d'un piège Delta ou à eau par serre et 20 à 25 pièges à eau en plein champ. L'entretien des pièges doit être assuré régulièrement par :

- le changement des plaques engluées dès leur saturation dans le cas des pièges Delta ;
- le remplissage du bac à eau jusqu'à sa limite supérieure sans que l'eau n'atteigne la capsule à phéromone car il faut rajouter des gouttes d'huile alimentaire ou de détergent domestique, après chaque renouvellement d'eau ; la phéromone doit être renouvelée chaque 4 à 6 semaines.

5.4. Lutte intégrée

C'est sans doute la seule stratégie durable. Elle a été définie en 1977 par l'organisation internationale de lutte biologique et intégrée contre les animaux et plantes nuisibles comme suit : « *La protection intégrée est la protection des cultures dont l'application fait intervenir un ensemble de méthodes satisfaisant aux exigences à la fois écologique, économique et toxicologique tout en réservant la priorité à la mise en œuvre délibérée des éléments naturels de limitation et en respectant les seuils de tolérance* »(**Deschamps, 2007**).

L'efficacité des stratégies de lutte pour éradiquer *Tuta absoluta* est en cours de développement dans le monde. Afin de réduire le nombre de traitements insecticides par saison au strict nécessaire, il est recommandé d'intégrer diverses méthodes de lutte qui sont :

- piégeage massif, avant la plantation, pour capturer le maximum de mâles de *T. absoluta*. Ces pièges seront disposés à raison de 30 pièges par hectare, de façon régulière dans les parcelles en renforçant les bordures et les passages centraux;
- traitement avec les pesticides sélectifs si la présence du ravageur est observée;
- recommandation de réalisation des traitements en combinant les biopesticides avec des insecticides chimiques de synthèse pour réduire les méfaits ;

- élimination des résidus de la culture immédiatement après récolte ;
- associer l'utilisation d'entomophages en fonction de leur disponibilité et de leur efficacité ;
- utiliser les pyréthrénoïdes telles que le cyperméthrine, la deltaméthrine et la perméthrine qui sont des molécules de synthèse du pyrèthre (plante) sont également efficaces.

Selon **Caceres (2000)**, les matières actives recommandées pour contrôler la mineuse sont : l'Abamectine (Avermectine), le Chlorofénapyr (Organochloré), le Spinosad (Naturaliste), Chlorfluazuron (Organochloré), et le Novaluron (Benzoylurée).

5.5. Lutte biologique

Les résultats des études menés au centre de recherche sur la culture industrielle à Harrow et Ontario, donnent à espérer que certaines espèces de Trichogrammes peuvent être de bons auxiliaires de lutte biologique contre la mineuse de la tomate, à condition d'appuyer leur action par d'autres méthodes de lutte (**Wang et al., 1998**).

L'activité prédatrice de trois espèces de punaises minides autochtones (*Nesidiocoris tenui*, *Macrolophus scaliginosus* et *Dycifus tamanini*) laisse entrevoir une possibilité de lutte biologique par une multiplication de leurs effectifs, en vue d'assurer des lâchers à des périodes propices, en fonction de la situation de leur exploitation (**Guenaoui et al., 2011**). Selon **Torres et al. (2002)**, des lâchers d'un autre prédateur naturel *Podisusnigrispinus* auraient des résultats positifs sur la maîtrise de *T. absoluta*.

Retarder l'effeuillage permet le bon développement de *Nesidocoris* et de *Macrolophus* dans les cultures (**Fischer, 2003**).

En Espagne et la France, pour faire face à l'attaque de *T. absoluta*, on a déployé des prédateurs de la tomate qui sont du genre *Macrolophus*, une punaise qui se nourrit abondamment des œufs du papillon. La punaise fait merveille, mais son temps d'installation est de trois mois. Alors pour compléter les dispositifs, les professionnels ont introduit un parasitoïde, une mini guêpe dont la particularité est de pondre ses œufs à l'intérieur des œufs de *Tuta absoluta*.

PARTIE III. LES HUILES ESSENTIELLES ET LES EXTRAITS DES PLANTES ETUDIEES

De tout temps, le règne végétal offert à l'homme des ressources naturelles à son alimentation, à son hygiène et à sa santé. Déjà en Chine, l'Empereur CHEN NONG médecin érudit consigne son savoir relatif aux plantes médicinales dans un livre, le PEN TS'AO qui recense plus de 1000 plantes médicinales utiles (**Lardy et Haberkorn, 2007**).

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles extraites de ces plantes dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation naturelle a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances. Depuis deux décennies, des études sont menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans différents domaines (**Zhiri, 2006**).

1. Définition

Les huiles essentielles sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment comme dans un grand nombre de plantes comme sous-produit du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de phytothérapie : l'aromathérapie (**Bruneton, 1999**).

2. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont en général liquides à température ambiante, volatiles, d'odeurs très fortes, incolores, jaune pâle ou quelques fois bleues. Elles sont insolubles dans l'eau mais

solubles dans des solvants, très altérables, elles s'oxydent au contact de l'air et de lumière (**Chaprentier et al., 2008**).

Le terme huile s'explique par la propriété de solubilité dans des graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins dégagée par la plante (**Teusher et al., 2005**).

3. Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon **Bekkali (2008)**, les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduisant la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines, protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par goût et effet défavorable.

4. Composition chimique

Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structures extrêmement complexes, 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 et les sesquiterpènes (**Croteau et al., 2000**).

4.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaînes ouvertes. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isopréniques 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 **tetraterpènes** formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les **polyterpènes** ($(C_5H_8)_n$ où n peut être de 9 à 30 (**Hernandez-Ochoa, 2005**).

Les **terpénoides** sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide etc.).

Les **monoterpènes** sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentant la majorité des constituants des huiles essentielles, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes, se rattachent un certain nombre des substances à fonction chimique (alcool, aldéhyde, cétone et ester).

Les **sesquiterpènes**, il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules (**Bruneton, 1999 ; Hernandez-Ochoa, 2005**).

4.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoides. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les huiles essentielles d'apiaceae (anis, fenouil, cannelle, basilic...).

4.3. Les composés d'origines diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultants de la transformation de molécules non volatiles issues de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation, par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléiques (**Piochon, 2008**).

4.4. Notion de chémotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans cette huile essentielle. 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 activités très variables (**Pibiri, 2005**).

5. Facteurs influençant la composition chimique

Il existe beaucoup de facteurs externes influençant la composition chimique des huiles essentielles : la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, le cycle végétatif de la plante, la méthode utilisée pour l'extraction, sont d'autant de facteurs susceptibles d'exercer les modifications chimiques.

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque, certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées directement sur la peau en raison de leur pouvoir irritant, allergène, photo-toxique et neurotoxique. D'autres huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation du cancer (**Guba, 2001**).

Actuellement les huiles essentielles et leurs composants représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles sont riches en composés antimicrobiens et antioxydants. La généralisation de l'utilisation des huiles essentielles n'est pas facilement envisageable à tous les aliments (**Cutter, 2000**), mais le recours s'avère être un choix pertinent à la nécessité de réduire ou de remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques.

La notion de synergie entre les systèmes antioxydants et antibactériens est aussi une alternative très importante ; voire même un procédé incontournable pour mieux sécuriser les produits vis-à-vis des germes pathogènes et contre les phénomènes d'oxydation lipidique (**Azeredo et al., 2004**). De nombreux auteurs (**Smith –Palmer et al., 2001 ; Pintore et al., 2002 ; Lin et al., 2004 ; Fisher et Phillips, 2006 ; Oussalah, 2006 ; Caillet et Lacroix, 2007**) ont rapportés que les huiles essentielles peuvent être ajoutées pratiquement à tous les aliments.

Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme bactéricides, fongicides, acaricides, nématocides, etc., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement. La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui attire l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origine végétale comme insecticides (**BoutalebJoutei, 2010**).

6. Etude botanique de trois plantes sélectionnées

Grâce à une recherche bibliographique faite à partir d'anciens et de nouveaux ouvrages botaniques et de quelques sites internet, pour limiter le nombre de plantes sélectionnées, les critères de rejets suivants ont été choisis :

- espèce protégée ;
- existence dans l'huile essentielle de molécules toxiques ayant fait l'objet de peu d'étude ;
- plante ayant fait l'objet de nombreuses études scientifiques ;
- absence d'huile essentielle dans la plante ;
- Existence sous forme arborescente.

Afin de mettre en application ces différentes approches, nous nous sommes intéressés à l'étude de trois espèces de plantes différentes dont l'une appartient à la famille des Apiacées, la deuxième à la famille des Lamiacées et la troisième à la famille des Cupressacées. Ces trois plantes sont connues pour leur richesse en huiles essentielles, réputées pour leurs propriétés thérapeutiques de plus, elles sont très répandues dans le Bassin méditerranéen, en particulier en Algérie. Par ailleurs, les recherches bibliographiques sur les travaux effectués sur ces plantes ont montré que la chimie de l'espèce *Daucus* et *Tetraclinis* reste insuffisamment étudiée et que les études biologiques concernant ces deux espèces sont très peu nombreuses.

Afin d'étudier leur efficacité et envisager leur utilisation comme moyen de lutte alternatif préservant l'environnement, les trois plantes sélectionnées sont *Thymus capitatus*, *Tetraclinis articulata* et *Daucus crinitus*.

6.1. *Thymus capitatus*

6.1.1. Description botanique et classification

Le genre *Thymus* regroupe un grand nombre d'espèces, sous-espèces et variétés de plantes sauvages. Plusieurs de ces espèces sont caractéristiques de l'aire méditerranéenne. Elles sont utilisées à l'état frais ou sec comme plantes culinaires. *Thymus* est une espèce de l'Afrique du Nord (**Photo 2**). Elle est endémique du Maroc et de l'Algérie. On la rencontre dans les régions de Meknès et Oujda (Forêt de Tafoghalat), respectivement au Centre et à l'Est du Maroc. *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link est une espèce du Bassin méditerranéen. Au Maroc, on

la rencontre au Sud et à l'Ouest de la ville de Tétouan (Nord du Maroc), dans le bioclimat tempéré ; elle se développe dans l'étage de végétation thermo-méditerranéen (**BENABID, 2000**).

En Algérie, le genre *Thymus* regroupe 12 espèces qui sont : *Thymus fontanesii*, *Thymus commutatus* (Ball.), *Thymus dreatensis*, *Thymus numidicus*, *Thymus guyonii*, *Thymus lanceolatus*, *Thymus pallidus*, *Thymus glandulosus*, *Thymus hirtus*, *Thymus algeriensis*, *Thymus ciliatus*, et *Thymus capitatus* (L.) (**Quezel et Santa, 1963**) situées essentiellement dans les zones semi-arides du pays.

La classification du thymus selon **Quezel et Santa(1963)** se présente comme suit :

Embranchement : Angiospermes

Sous- Embranchement : Eudicots

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Thymus*

Espèce: *Thymus capitatus* (L.)

Noms vernaculaires : **Arabe** : Zaatar زعيرة

Français : Thym.

Anglais : Thyme



Photo 2: *Thymus capitatus* (L.) Hoffm.& Link

6.1.2. Données phytochimiques

Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés ; la composition chimique de leurs huiles essentielles a été étudiée depuis longtemps (**Bazer et al., 1998 ; Vila et al., 1995 ; Guillen et al., 1998 ; Loziene et al., 1998 ; Saez, 1998 ; Tumen et al., 1998**).

6.1.3. Utilisation médicinale

Leurs huiles essentielles sont largement utilisées dans la médecine alternative grâce à leurs propriétés antiseptiques, antispasmodiques et antimicrobiennes (**Panizzi et al., 1993**) ; elles ont également des propriétés antivirales et aussi stomachiques et expectorantes.

En tisane, elles servent à soigner les infections respiratoires. Une tisane de thym est également efficace pour drainer le foie, ce qui fait qu'il est recommandé par la naturopathie pour les personnes subissant une chimiothérapie, traitement très destructeur pour le foie. C'est aussi un excellent calmant.

En aromate ou en infusion, c'est un désinfectant des voies digestives souvent utilisé en association avec le romarin et la sauge. Le thym soulage les digestions difficiles. L'infusion de thym peut s'utiliser en bain de bouche en cas d'inflammation des gencives et en gargarisme en cas d'irritation de la gorge ou d'angines.

Mais surtout le thym ou des préparations contenant du thym s'utilisent en fumigation pour traiter les rhinites et les sinusites.

Cette espèce est utilisée aussi en médecine traditionnelle contre de nombreuses maladies.

6.1.4. Importance écologique, industrielle et économique

Les huiles essentielles de *T. capitatus* de différentes origines ont déjà fait l'objet de plusieurs études. L'essence de cette plante est largement utilisée dans les industries de parfumerie, de cosmétologie, alimentaire et pharmaceutique (**Fisher, 2003**).

Il est utilisé comme aromate en cuisine, dans les tisanes ou même dans les bonbons (Ricola par exemple). Le thym peut être également utilisé pour fabriquer des liqueurs particulièrement parfumées quand elles sont à base de fleurs ramassées l'été.

6.2. *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.

6.2.1. Description botanique et classification :

De la famille des Cupressacées, *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (Thuya de Berbérie) est géographiquement lié aux trois pays du Maghreb (Maroc, Algérie et Tunisie). Il se rencontre aussi dans quelques secteurs très ponctuels, au Sud-est de l'Espagne (région d'Almeria) et sur l'île de Malte (**Achhal et al., 1985**).

Le Thuya de Berbérie, *Tetraclinis articulata*, est une plante endémique d'Afrique du nord occidentale (Maroc, Algérie et Tunisie). En dehors de cette zone, on rencontre quelques petites localités au sud-est de l'Espagne (province de Carthagène) et à l'île de Malte. *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, est le seul représentant du genre, se rencontrant dans l'hémisphère nord. Cette espèce endémique de la Méditerranée occidentale possède la faculté d'émettre vigoureusement des rejets des souches jusqu'à un âge très avancé (250 ans).

Tetraclinis articulata (Vahl) Mast; arbre ou arbuste (**Photo 3**), est souvent petit et buissonnant, à rameaux verts et articulés. Feuilles opposées mais paraissant verticillées par 4, en partie soudées à la tige dont chaque entrenœud est entouré par 4 feuilles. Cônes glauques, dont les 4 valves sont munies au sommet d'un appendice plat et réfléchi (**Quezel et Santa, 1962**).



Photo 3 : *Tetraclinis articulata*(Vahl) Mast.

Classification de *Tetraclinis* selon (Fralish, 2002; Barrero et al., 2003) :

Embranchement: Spermaphyta.

Sous- Embranchement: Gymnospermae.

Division: Pinophyta.

Classe: Pinopsida.

Ordre: Pinales.

Famille: Cupressaceae.

Genre: *Tetraclinis*.

Espèce: *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.

Noms vernaculaires :

Arabe : Arâar. عرعار

Français: Thuya de Berbérie.

Anglais: Berber thuya, Sandarc

6.2.2. Données phytochimiques

Les feuilles contiennent des tanins, des huiles essentielles et des diterpénoïdes (thymoquinone, carvacrol et β -thujaplicins) (Barrero et al., 2003; Bourkhiss et al., 2007).

6.2.3. Utilisation médicinale

Cette plante est utilisée comme hypoglycémiante, hypotensive, antivertige, cicatrisante, anti diarrhéique, contre l'inflammation des yeux et les maux de tête (Bnouham et al., 2002). Elle est également anti-helminthique, laxative et purgative. Cette plante est utilisée pour les maladies de peau (prurit, parasitoses, mycoses, infections bactériennes et piqûres d'insectes) ; en pathologie de la sphère bucco-dentaire, antipyrétique, antipaludéenne, antiseptique, anti-infectieuse, préventive des épidémies (Bellakhdar, 1997) ainsi que antibactérienne et antifongique (Bourkhiss et al., 2007). En phytothérapie, différentes parties de la plante sont

utilisées contre les fièvres enfantines, les douleurs gastriques, les fortes diarrhées, le diabète, l'hypertension, etc.

En médecine populaire, différentes parties sont utilisées principalement pour le traitement des infections intestinales et respiratoires, le diabète et l'hypertension (**Ziyyat et al., 1997**).

6.2.4. Importance écologique, industrielle et économique

Tetraclinis joue un rôle écologique très important grâce à sa capacité à former des rejets de souches, il résiste bien aux incendies. Ses racines développées permettent la stabilisation des sols, limitant ainsi les effets de l'érosion. Il est vigoureux et pratiquement indifférent aux substrats.

Du point de vue industriel et économique, le thuya produit un bois d'excellente qualité qui est utilisé en menuiserie, en ébénisterie, en industrie et comme bois de chauffage (**Kacem, 1991**).

La majorité de l'aire des tétraclinaies se situe dans l'étage bioclimatique semi-aride tempéré et chaud. Cette espèce se développe aussi dans les domaines sub-humide et aride supérieur, indifféremment de la nature du substrat (calcaire ou siliceux). Cependant, cette essence forestière fuit les sols argileux mal drainés.

Les forêts de Thuya assurent un rôle très important dans la vie économique et sociale des populations riveraines. Son bois, caractérisé par sa résistance à la pourriture, est utilisé surtout dans le secteur artisanal pour la marqueterie, l'ébénisterie et aussi comme bois de feu. La gomme sandaraque produite par *Tetraclinis articulata* est totalement exportée à l'étranger. Elle est utilisée dans la fabrication de vernis de luxe et en industrie pharmaceutique (**Bellakhdar, 1997**).

Ce sous-produit de *Tetraclinis articulata* est brûlé pour servir de source d'énergie essentiellement pour les bains maures alors qu'il pourrait constituer une matière première pour la production des huiles essentielles. Les huiles de Thuya sont largement utilisées en pharmaceutique et en cosmétique.

6.3. *Daucus crinitus* Desf.

6.3.1. Description botanique et classification

Le nom latin « *Daucus crinitus* » signifie une carotte à semences chevelues, dans l'encyclopédie méthodique botanique (Lalarck et Poiet, 1811) et « eurg Sidi messaoud » (Quezel et Santa, 1963) et « carottes à feuilles réduites » (Pujadas Salva, 2003). L'espèce à pour nom commun « Bouzeffour » chez les habitants de l'ouest algérien.

Cette espèce est remarquable par les poils nombreux, mous, allongés, blanchâtres ou violets dont les semences sont chargées. Les tiges sont simples ou à peine rameuses, droites, légèrement striées, hautes de deux à trois pieds. Les feuilles distantes, longuement pétiolées ; la plupart des fleurs centrales avortées ; les pétales blancs, presque égaux : les semences à demi cylindriques. Les fleurs, froissées entre les doigts, répandent une odeur aromatique.

Cette plante est largement distribuée en Algérie, Maroc, Espagne et Portugal. Elle croît sur les monts Atlas et sur les collines incultes, aux environs de Mascara et de Tlemcen (Ayachi, 2014).



Photo 4 : *Daucus crinitus* Desf.

Classification du *Daucus* selon (Brands, 2000) :

Embranchement : Tracheophyta

Sous-Embranchement : Euphyllophytina

Classe: Magnoliopsida

Sous-Classe : Cornidae

Ordre: Araliales

Famille: Apiaceae

Sous- Famille : Apioideae

Genre: *Daucus*

Espèce: *Daucus crinitus* (desf.).

Noms vernaculaires : Carottes à semence chevelue

Arabe : Bouzeffour بوزفور

Français : *Daucus*

6.3.2. Données phytochimiques

Il y a peu d'études effectuées sur *D.crinitus* en Algérie. Les phénylpropanoïdes du *D. crinitus* Desf. en Algérie sont bioactives (**Lanfranchi et al., 2010**).

A Tlemcen, (**Ayachi, 2014**) a réalisé une étude chimique et biologique des extraits et des huiles essentielles de *Daucus crinitus*.

6.3.3. Utilisation médicinale

Une enquête menée par les herboristes a montré que la plante s'emploie traditionnellement depuis longtemps : Une boisson faite à partir des racines en décoction de *D. crinitus* est utilisée pour expulser le placenta après l'accouchement et comme tonique. Les racines broyées sont ajoutées dans les aliments comme épices notamment avec les pâtes alimentaires.

Les racines sont parfois coupées pour former un bracelet entourant les bras des enfants qui se réveillent continuellement dans la nuit, il paraît que l'odeur a un rôle tranquillisant.

Elles sont également utilisées comme colloïde à miel.

7. Activités biologiques

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Zhiri, 2006).

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité (Dorantes et al., 2000 ; Djenane et al., 2002 et 2006 ; Kuda et al., 2004 ; Bousbia, 2004).

7.1. Activité insecticide

Les substances d'origine végétale, en particulier les huiles essentielles, sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyens de défense contre les ravageurs phytophages (Cseck et al., 1999). Les biopesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt (Chiasson et Beloin, 2007).

Les huiles essentielles sont fait l'objet de nombreuses recherches en vue de réduire les pertes occasionnées par les insectes ravageurs des grains stockés par leur effet insecticide (Keita et al., 2001 ; Kellouche et Soltani, 2004 ; Kellouche, 2005 ; Batish et al., 2008 ; Camara, 2009 ; Kellouche et al., 2010).

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps, en effet le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes (Crosby, 1966). Dans des travaux encore plus récents, les propriétés insecticides de certaines plantes ont été testées sur les larves d'insectes.

Les effets insecticides des plantes ont été prouvés par de nombreux auteurs. On peut citer l'extrait aqueux de *Azadirachta indica* A. Juss contre *Heliothis armigera* (Hubner) et *Plutella xylostella* (Curtis) (Gtz/Dfpv, 1996), l'extrait de *Cestrum parqui* sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*. Forskal (Barbouche et al., 2001). Les huiles essentielles du genévrier, du faux poivrier et de l'armoise sur *Ryzoperta dominica* L. (Khalfi –Habes et al., 2009), les extraits de *Melia azedarach* A. Juss., de *Nerium oleander* L., et de *Inula viscosa* (L.) W. Greuter sur le criquet pèlerin (Tail et al., 2006).

Dans notre étude, nous avons testé les huiles essentielles de nos plantes étudiées sur les différents stades larvaires de l'insecte ravageur *Tuta absoluta*.

7.2. Activité antifongique

Les moisissures représentent un groupe hétérogène de champignons microscopiques saprophytes et, parfois parasites, des organismes eucaryotes, thallophytes (filaments mycéliens à croissance apical).

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (**Debillerbeck et al., 2002 ; Koba et al., 2004 ; Oussou et al., 2004 ; Ouraini et al., 2005**) et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes. D'autres travaux ont été effectués par **Omidbeygi et al. (2007)** qui ont montré que les huiles essentielles de Thym, de la sarriette et du clou de Girofle présentent une activité antifongique « *in vitro* » contre *Aspergillus flavus*. Il a été établi d'après **Cox et al. (2000)** que généralement les champignons sont plus sensibles que les bactéries.

7.2.1. Souches fongiques utilisées

Les moisissures représentent un groupe hétérogène de champignons microscopiques saprophytes et parfois parasites des organismes eucaryotes, thallophytes (filaments mycéliens à croissance apical).

Nous avons isolé sept souches de moisissures des tomates provenant de notre champ (site d'étude).

7.2.1.1. *Aspergillus niger*

Ce sont les espèces fongiques les plus communes qui sont capables de produire des mycotoxines dans les produits alimentaires. La présence et la croissance des champignons peuvent entraîner la détérioration et la réduction de la qualité et la quantité des aliments (**Rassooli et Abyaneh, 2004**). Dans différentes parties du monde, il y a une inquiétude croissante au sujet de la contamination des aliments, l'exposition environnementale et professionnelle aux spores fongiques de différentes espèces, en particulier à l'aflatoxine produite par ces espèces fongiques comme le cas d'*Aspergillus niger* (**Takahashi, 2004**).

7.2.1.2. Alternariose de la tomate

L'alternariose de la tomate est une maladie cryptogamique provoquée par un champignon *Alternaria solani* Sorauer de la famille des Pleosporaceae sur la tomate. Ce champignon attaque également d'autres Solanacées dont la pomme de terre, le piment et l'aubergine.

7.2.1.3. Fusariose de la tomate

Selon **Mohamed et Haggag (2003)**, la fusariose de la tomate est causée par le champignon pathogène *Fusarium oxysporum*.

Les espèces de *Fusarium* provoquent des maladies qui entraînent des pertes économiquement importantes comme le flétrissement vasculaire ou la pourriture racinaire et du collet chez des plantes cultivées au champ et en serre (**Fravel et al., 2003**). *Fusarium oxysporum* est considéré comme ascomycète bien que les stades sexuels doivent être encore trouvés.

Au sein de l'espèce *F.oxysporum*, on distingue plus de 120 formes spéciales en fonction de leur pathogénicité sur des plantes hôtes. Dans un milieu de culture solide, comme le milieu PDA, les différentes formes spéciales de *F. oxysporum* peuvent varier d'apparence. Généralement, au début de la croissance, le mycélium aérien est blanc et peut ensuite changer vers une grande variété de couleurs (du violet jusqu'au pourpre foncé) selon la souche de *F. Oxysporum* (ou forme spéciale).

Parmi les maladies causées par *F. oxysporum* on trouve le flétrissement vasculaire aussi appelé fusariose vasculaire (vascularwilt), la pourriture racinaire et du collet (root rot, crown rot) et la pourriture des semis (damping-off). La dénomination fusariose est utilisée de façon moins spécifique et peut indiquer tout syndrome causé par un *Fusarium*. De ces maladies, le flétrissement vasculaire est la maladie qui provoque les plus grandes pertes et dans un grand nombre de plantes cultivées, telles que des légumes, des fleurs, et des cultures tropicales (**Agrios, 2005**), La fusariose vasculaire de la tomate causée par *F. oxysporum*f.sp. lycopersici est le cas le plus étudié ; en ce qui concerne le cycle de la maladie et son développement, il est représentatif du flétrissement vasculaire chez d'autres plantes (**Agrios, 2005**). La tomate est souvent cultivée en serre où les températures élevées du sol favorisent la maladie.

7.2.1.4. *Penicillium sp.*

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des ascomycètes. Ils sont caractérisés par un filament dressé, un stipe, qui porte des cellules conidiogènes (phialides), groupées en pinceaux (d'où le nom de *Penicillium*), formant des conidies en chaînes. Entre les phialides et les stipes peuvent s'intercaler les éléments intermédiaires qui rendent l'organisation du pinceau plus complexe.

Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart, très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations (**Botton et al., 1990**). Ils ont pour habitats naturels le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost et les céréales.

Les *Penicillium* se développent facilement sur les milieux utilisés en mycologie, mais sont inhibés par les cycloheximides. Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Leur croissance est rapide, la colonie est habituellement duveteuse, poudreuse, de couleur variable, le plus souvent verte, mais parfois grise, jaune ou rose ; le revers est incolore ou foncé (**Chabasse et al., 2002**).

Les *Penicillium* sont très rarement incriminés en pathologie humaine (**Chabasse et al., 2002**). Les infections sont habituellement provoquées par l'inhalation des spores. Les premiers signes sont souvent pulmonaires. Des espèces de *Penicillium* sont responsables de kératomyose (inflammation de la cornée), d'otomyose (infection de l'oreille externe), d'onychomyose (infection des ongles) et parfois d'infections profondes (**Hannequin et Lavarde, 1998 ; Rosenthal et al., 2000**).

7.2.1.5. La pourriture grise : *Botrytis cinerea*

La pourriture grise provoquée par le champignon *Botrytis cinerea* est un problème récurrent dans la culture de tomate sous abris. Ce champignon peut entraîner des pertes de rendement très important en affaiblissant les plantes et en les détruisant (**Choux et Foury, 1994**).

Selon **Choux et Foury (1994)**, à températures assez basses, le *Botrytis* se développe surtout sur les plantes étiolées, provoquant le développement d'un feutrage gris sur les feuilles.

7.2.1.6. *Trichoderma sp.*

Parmi les termes qui existent sur la liste taxonomique des moisissures, le terme *Trichoderma* qui a été introduit dans la mycologie en 1794 par **Persoon**. Il désigne des champignons microscopiques considérés durant 200 ans comme étant des Gastéromycètes. Ces organismes cosmopolites appartiennent à un grand ensemble de champignons sans reproduction sexuée connue.

Le système taxonomique de Bissett est aussi appuyé, entre autres, par des approches de biologie moléculaire (PCR), pour répondre au positionnement de nouvelles espèces de *Trichoderma* identifiées (dont les formes téléomorphes¹ sont souvent non identifiées) et reste le plus fiable actuellement (**Lillard-Roberts., 2004**).

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. En effet, les *Trichoderma sp.* sont remarquables par leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la microflore terrestre et marine.

Le genre *Trichoderma* est l'un des trois groupes prédominants. Il vient à la troisième position après les genres *Penicillium* et *Aspergillus* en importance numérique. La présence des *Trichoderma sp.* en milieu terrestre (6% du nombre total des espèces fongiques) semble comparable à celle en milieu marin (6,4% à 10,4%) (**Landreau., 2001**).

L'abondance des *Trichoderma sp.* dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes. Ils sont de ce fait, un maillon important dans les chaînes biologiques (**Mohamed-Benkada, 2006**).

7.2.2. Application des hydrolats dans les produits alimentaires (*in vivo*)

Quelques récentes publications ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques (**Hussain Ai, 2008 et 2010**).

Actuellement, les huiles essentielles et leurs composants, représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles sont riches en composés antimicrobiens et antioxydants.

La généralisation d'utilisation des H.E. n'est pas facilement envisageable à tous les aliments (**Cutter, 2000**), mais le recours à ces huiles s'avère être un choix pertinent à la nécessité de réduire ou de remplacer les agents de conservation chimique ou synthétique. La notion de synergie entre les systèmes antibactériens et antioxydants est aussi une alternative intéressante, voire un procédé incontournable pour mieux sécuriser les produits vis-à-vis des germes pathogènes, et contre les phénomènes d'oxydation lipidiques (**Azeredo et al., 2004**).

Pour toutes ces nombreuses raisons, nous avons jugé utile de tester les activités biologiques des hydrolats des plantes étudiées directement sur la tomate contre les différentes souches cryptogamiques isolées de nos plants de tomates.

7.3. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux *Labiatae* : Thym, Romarin, Origan....qui sont d'autant des plantes aromatiques aux huiles essentielles riches en composés phénoliques telles que l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires, ces derniers ont un effet antibactérien contre un large spectre de bactéries (**Pauli, 2001**).

Belleti et al. (2004) et **Fisher et al. (2007)**, ont démontré que certaines huiles essentielles sont efficaces contre les bactéries pathogènes, les spores bactériennes mais également sur certaines bactéries responsables de toxi-infections alimentaires.

Oussalah et al. (2006) suggèrent que l'action des huiles essentielles sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries en perturbant les systèmes de transport ioniques, le transport des électrons et la production d'énergie.

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leurs membranes externes. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (Cristiani et al., 2007).

7.3.1. Souches bactériennes utilisées

Les différentes souches bactériennes utilisées sont également isolées des tomates de notre site d'étude.

7.3.1.1. *Acinetobacter* sp.

Séparé du genre ancien et confus des *Achromobacter* en 1954 (Brisou et Prévot) et défini en 1983 (Bouvet et Grimont), le genre *Acinetobacter* comprend actuellement 12 espèces. Ce sont des bactéries ubiquitaires avec cependant certaines particularités : *baumannii* est l'espèce " hospitalière " type, *calcoaceticus* est souvent isolée des sols, *johnsonii* fait partie de la flore cutanée normale de l'homme.

La morphologie des *Acinetobacter* est très caractéristique, mélangeant diplobacilles principalement, diplocoques et rares formes longues, à Gram négatif (avec parfois quelques difficultés de décoloration), toutes ces formes sont immobiles.

Les souches du genre *Acinetobacter* sont constituées de bactéries à Gram négatif, non fermentantes, coccoïdes, non sporulées, parfois capsulées, immobiles (mais pouvant présenter une mobilité par saccade résultant de la présence de fimbriae polaires), aérobies strictes, à métabolisme respiratoire strict, catalase positive et oxydase négative.

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont connues comme étant capables de former des inclusions intracellulaires de polyhydroxyalcanoates sous des conditions de stress (ex : déficit d'éléments tels que le phosphore, l'azote, l'oxygène combiné avec un excès en sources carbonées)

En phase exponentielle de croissance, les *Acinetobacter* sp. se présentent sous la forme de bacilles de 0,9 à 1,6 µm de diamètre sur 1,5 à 2,5 µm de longueur, souvent groupés par deux ou parfois en chaînes de longueur variable. Dans les cultures âgées, on peut observer des formes sphériques ou filamenteuses.

Les *Acinetobacter* sp. ne réduisent généralement pas les nitrates en nitrites en milieu complexe. Toutefois, certaines souches réduisent les nitrates en milieu minéral minimum, mais ces souches ne sont pas capables de croître en anaérobiose en utilisant les nitrates comme accepteur final d'électrons.

Acinetobacter baumannii et, à un moindre degré, les autres *Acinetobacter*, sont des bactéries qu'on isole en milieu hospitalier de prélèvements effectués chez des malades des services de réanimation ou de soins intensifs. C'est la bactérie "médicale" la plus résistante aux antibiotiques.

7.3.1.2. *Flavobacterium* sp.

Le genre *Flavobacterium* rassemble des bactéries en forme de bâtonnet, à coloration de gram négatif, non fermentantes et aérobies strict.

Les *Flavobacterium* sont des bactéries présentes dans le sol, les eaux douces. Certaines espèces comme *Flavobacterium psychrophilum* sont pathogènes pour les poissons. Leur nom *Flavobacterium* vient du latin *flavus*, qui veut dire jaune. En effet, les premières bactéries du genre découvertes se multipliaient en créant des tâches jaunes.

Le genre *Flavobacterium* a été décrit pour la première fois en 1923 (**Bergey et al. 1923**). Il était constitué de bactéries Gram-négatives aérobies qui se distinguaient par leur forme allongée en fin bâtonnet et par la présence d'un pigment jaune caractéristique de type flexirubine et/ou caroténoïde. Ces bactéries sont incapables de sporuler et possèdent la propriété de ne pas être douées de mobilité par glissement, contrairement aux membres appartenant aux genres *Cytophaga* et *Flexibacter* (**Holmes et al. 1992**). Cette absence de mobilité propre aux flavobactéries au sein du groupe CFB suggérerait une évolution à partir d'ancêtres distincts (**Reichenbach 1989**) (**Woese et al. 1990**).

Le genre *Flavobacterium* appartient à la famille des *Flavobacteriaceae* (de *flavus*: jaune) qui constitue une des principales lignées phylogénétiques au sein du domaine des *Bacteria* (Woese et al. 1985) (Bernardet et al. 1996). Historiquement, plusieurs noms ont été donnés à cette lignée, comme le phylum « *Flavobacter-Bacteroides* » (Gherna et Woese 1992), le complexe *Flavobacterium-Cytophaga* (Nakagawa et Yamasato 1993), la superfamille ARNr (Segers et al. 1993) ou le groupe « *Cytophaga-Flavobacterium- Bacteroides* » ou groupe CFB (Hirsch et al. 1998). A l'origine, ce phylum était constitué des genres *Cytophaga*, *Flexibacter* et *Flavobacterium*. Des études de phylogénie à partir des séquences d'ARNr 23S ont suggéré que le phylum bactérien le plus proche du groupe CFB correspond aux bactéries vertes soufrées (Woese et al. 1990). Plus récemment, ce phylum a été renommé *Bacteroidetes* (Bernard et Nakagawa 2003).

7.3.1.3. *Bacillus sp.*

Les *bacillus sp.* correspondent à de grands bacilles : Gram +, sporogènes ; faciles à cultiver; aérobies stricts ou facultatifs; possédant une catalase. Leurs tailles varient de 3 à 9 micromètres et 1 micromètre de large avec une forme rectangulaire et mobile.

Isolés ou groupés en chaînes, ils peuvent représenter l'aspect en "canne de bambou". La coloration au Gram est variable car ils se décolorent rapidement. On peut donc les voir Gram + et Gram – sur un frottis. Ils cultivent bien sur milieux ordinaire dans de larges limites de température (12-45°C) et de pH (6-8,5). La plupart se développent plus vite à 30° qu'à 37°C. Leur culture est abondante en 24h, en bouillon comme en gélose.

A l'isolement : colonie volumineuse, de l'ordre de 5mm de diamètre, souvent de type R, sèche à bords réguliers. Ils possèdent une catalase, ils hydrolysent des macromolécules organiques dont la nature varie suivant leur équipement enzymatique : gélatinase, amidon, lécithine.

Les nombreuses recherches menées sur le fonctionnement de *B. sp* permettent d'étudier un grand nombre d'espèces d'intérêt qui lui sont phylogénétiquement proches. C'est un des organismes les plus étudiés, le second chez les procaryotes, juste après *Escherichia coli*. Du point de vue génétique, *Bacillus.sp.* est facilement manipulable, c'est également un excellent modèle pour l'étude de la croissance végétative et de la sporulation. Tous ces points font de cette bactérie un organisme dit « modèle ».

Il a été montré que les espèces de *Bacillus* sont très proches les unes des autres au niveau génomique (Guinebretière et al., 2008). Les espèces sont donc classées par profil thermique de croissance puis par leur cytotoxicité. De plus, il a été montré que le groupe constitué de *B. cereus*, fait en réalité référence à une nouvelle espèce les *Bacillus cytotoxicus* (Lapidus et al., 2008).

Afin de résister à un environnement qui n'est plus favorable à leur développement, certaines bactéries sont capables de sporuler. Ainsi, lors d'une baisse des nutriments, d'une baisse d'une variation importante de température, les bactéries du groupe *Bacillus* produisent des spores ultra résistantes par rapport à la forme végétative (Andersson et al., 1995).

En industrie agroalimentaire, les spores des bactéries résistent aux traitements thermiques classiques comme la pasteurisation. Ainsi, il n'est pas rare de retrouver de nombreuses traces de ces dernières sur les surfaces de travail ou encore dans les produits commercialisés. Le véritable problème est que la pasteurisation peut activer la germination des spores au lieu de les détruire (Collado et al., 2003). Suite à leur activation, les spores germent sous forme végétative pouvant se développer dans un produit en l'absence de flore compétitive (Samapundo et al., 2011).

Plusieurs chercheurs utilisent cette bactérie dans leurs essais pour un contrôle biologique.

7.3.1.4. *Pseudomonas* sp.

Par définition, les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes. Mais cette définition ne permet pas de les différencier des autres bactéries à Gram négatifs, et doit être complétée par d'autres caractéristiques phénotypiques (Palleroni, 2008).

Le genre *Pseudomonas* est caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose).

Les *Pseudomonas* ont une capacité élevée à coloniser la rhizosphère ainsi que les racines des plantes et sont capables de former des associations intimes avec leurs hôtes. Ces associations peuvent mener à une maladie chez les plantes hôtes sensibles, comme par exemple de nombreux pathovars de *Pseudomonas syringae* qui mettent en place des interactions pathogènes avec les plantes (Höfte et de Vos, 2006). *P. syringae*, comme beaucoup d'autres *Pseudomonas* phytopathogènes, est capable d'induire chez les plantes résistantes non hôtes, une réaction hypersensible (HR) à l'origine de la SAR (La résistance systémique acquise qui

protège les plantes contre les attaques ultérieures d'autres pathogènes). (Alfano et Collmer, 1997).

La HR est une réaction rapide de défense des plantes correspondant à une mort programmée des cellules aux sites d'invasion, qui bloque la progression du pathogène (Klement, 1982).

Néanmoins, d'autres espèces de *Pseudomonas* sont capables de mettre en place des interactions mutualistes. Elles sont très largement représentées parmi les bactéries à effet PGPR qui promouvoient la croissance des plantes. Ces bactéries sont aussi largement retrouvées parmi les agents potentiels de lutte biologique qui ont pour effet d'améliorer la santé des plantes et sont notamment connues pour leur effet antagoniste avec les phytopathogènes. La grande diversité des mécanismes d'action de ces *Pseudomonas* est principalement liée à leur grande capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires et à induire l'ISR chez les plantes (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Whipps, 2001; van Loon, 2007; Weller et al., 2002, 2007).

Les *Pseudomonas* produisent notamment, de nombreux métabolites antifongiques (Weller et al., 2002, 2007). En effet, la plupart des *Pseudomonas* produisent des antifongiques tels que des phénazines, la pyolutéorine, la pyrrolnitrine et le DAPG (2,4-diacetylphloroglucinol) qui sont les antifongiques les plus fréquemment détectés (Haas et Défago, 2005). Ces bactéries sont également capables de synthétiser des sidérophores appelés pyoverdines ou pseudobactines. Ces molécules sont impliquées dans l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes (Lemanceau et al., 2009) et contribuent à l'acquisition du fer par les végétaux (Vansuyt et al., 2007).

Elles élicitent les réactions de défenses des plantes et, de par leur forte affinité pour le fer, elles limitent la croissance saprophyte de certains microorganismes phytopathogènes (Lemanceau et al., 2009).

7.3.1.5. *Erwinia* sp.

Erwinia est un genre de protéobactéries de la famille des Enterobacteriaceae. Les *Erwinia* sont des bacilles à coloration de Gram négatif, mobiles grâce à des flagelles péritriches.

Ces bactéries sont associées aux végétaux en tant que saprophytes ou pathogènes. Elles peuvent entraîner des dégradations de la structure des végétaux, des flétrissements, des dépérissements, des jaunissements ou des pourritures.

Parmi les espèces les plus connues figurent :

- *Erwinia amylovora*, agent du feu bactérien des *Rosaceae*, notamment le poirier et le pommier,
- *Erwinia carotovora*, agent pathogène de nombreux fruits et légumes (carotte, betterave, navet, tomate, pomme de terre, etc.),
- *Erwinia tracheiphila*, agent du flétrissement bactérien des Cucurbitaceae.

Elle a comme conséquence une fonte totale du tissu de la plante et du tubercule, et elle est caractérisée par son odeur fétide. Elle peut également affecter des tiges en fleur après récolte, et une tige infectée peut totalement ruiner la vie en vase des autres plantes associées. La cause primaire est le stress des plantes et un manque d'hygiène.

Le contrôle d'*Erwinia* relève principalement de la gestion de la culture - une plante saine et forte et une bonne hygiène de récolte réduiront de manière significative l'incidence de la maladie. Les aspects suivants sont les causes communes de stress et ses problèmes conséquents : la pourriture et la fonte du tubercule.

Si les plantes commencent à s'effondrer lors d'une attaque d'*Erwinia* la réaction usuelle de l'horticulteur est de stopper l'arrosage ; toutefois les conditions sèches peuvent conduire encore à plus de stress et de pertes. Alors que les racines luttent pour trouver assez d'humidité pour maintenir la transpiration, les dommages sur le tissu végétal se produisent. Les pertes au niveau des racines entraînent un déficit accru d'hydratation, plus de stress et un effondrement certain et total de la plante.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

PARTIE I. PRESENTATION DE LA ZONE D’ETUDE

1. Situation géographique

La commune de Remchi est une fin de plateaux intérieurs de la wilaya de Tlemcen, sa superficie est de 13600 ha avec un total de groupement égal à 20.598 ha. Elle est limitée par la wilaya de Ain Témouchent vers le nord ; Sebaa Chioukh et El Fehoul vers l’est ; Hennaya et Zenata au sud et Beni Ouarsous à l’ouest (Fig. 3).

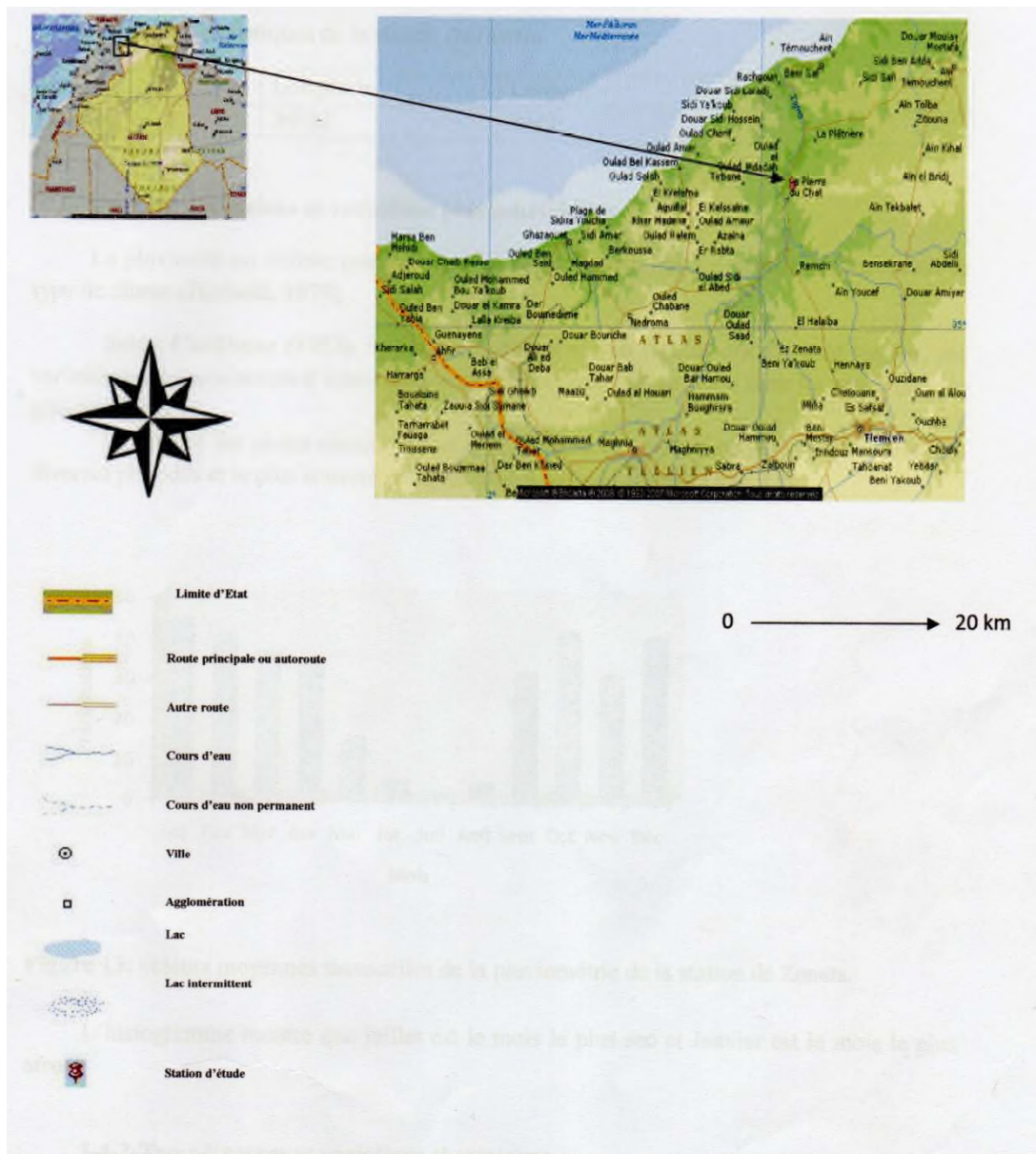


Figure 3 : Carte de la zone d’étude Hadjret El Gat (Remchi)

2. Ressources en sol

Vu la diversité des reliefs de la commune de Remchi, les ressources et les types de sol sont très caractéristiques, il en existe deux grandes catégories:

- ❖ Sols rouges méditerranéens au niveau des plateaux, caractérisés par une texture plus ou moins équilibrée, avec une profondeur moyenne de 25 à 35cm et la présence de quelques croutes calcaires.
- ❖ Sols alluvionnaires caractérisés par une formation récente le long des vallées, avec une texture légèrement grossière (dominance de limon et de sable) et une profondeur moyenne de 40 à 60cm. Ce sont des sols très fertiles.

3. Hydrologie

Le site de Remchi est dépourvu de puits, les ressources en eau sont assurées par l'Oued Tafna et le barrage de Boughrara. L'irrigation se fait à l'aide de moyens traditionnels qui engendrent des pertes en eau assez importantes.

4. Etude climatique de la station

Le climat est un facteur déterminant qui se place en amont de toute étude relative au fonctionnement des systèmes écologiques (**Thinthoin, 1948**).

L'étude climatique est basée sur deux points essentiels :

- déterminer l'étage bioclimatique de la zone d'étude à partir du diagramme pluviothermique **d'Emberger (1963)**.
- déterminer la période sèche en utilisant le diagramme ombrothermique de **Bagnouls et Gaussen(1953)**.

Cette étude est réalisée à partir des données météorologiques des températures et des précipitations fournies par la station météorologique de l'Office National de la Météorologie (ONM) de Zenata, qui est la plus proche et la plus représentative de notre aire d'étude (**Tab. 3**). Elle est située au sud-ouest de la Daira de Remchi dont les coordonnées sont 35°-01 nord et 01°-25 ouest, avec une altitude de 284m.

Tableau 3 : Caractéristiques de la station de Zenata

Station	Longitude	Latitude	Altitude
Zenata	34° 52'	1° 17'	592

4.1. Précipitations

La pluviosité est définie par **Djebaili** en **1978** comme étant le facteur primordial qui permet de déterminer le type de climat.

Le climat méditerranéen se caractérise essentiellement par sa douceur et par des précipitations généralement faibles, mais surtout mal réparties dans le temps : pluies violentes tombant en quelques jours, entrecoupées de longues périodes sèches.

Dans le tableau 1 (**ANNEXES**), nous avons rapporté les valeurs des précipitations mensuelles de la période 2003-2013.

Les moyennes mensuelles montrent clairement que le mois de janvier est le plus arrosé alors que le mois le plus aride est le mois de juillet.

Certains mois accusent un déficit hydrique très important, même en période dite pluvieuse, c'est le cas des mois novembre et décembre de l'année 2005 et mai et décembre de l'année 2007 (**ANNEXES**). Ces déficits sont caractéristiques du climat méditerranéen.

Les précipitations sont irrégulières d'une année à une autre, avec un minimum en 2006 (<300 mm) et un maximum en 2003 et 2008 (>400 mm).

D'après la **figure 4**, on remarque que la période pluvieuse s'étale de septembre à avril, avec un maximum qui se situe en janvier ; il est de 43.56 mm.

La saison sèche coïncide avec la saison la plus chaude, elle s'étale de mai à août. Le mois le moins pluvieux est juillet, avec seulement 0.17 mm.

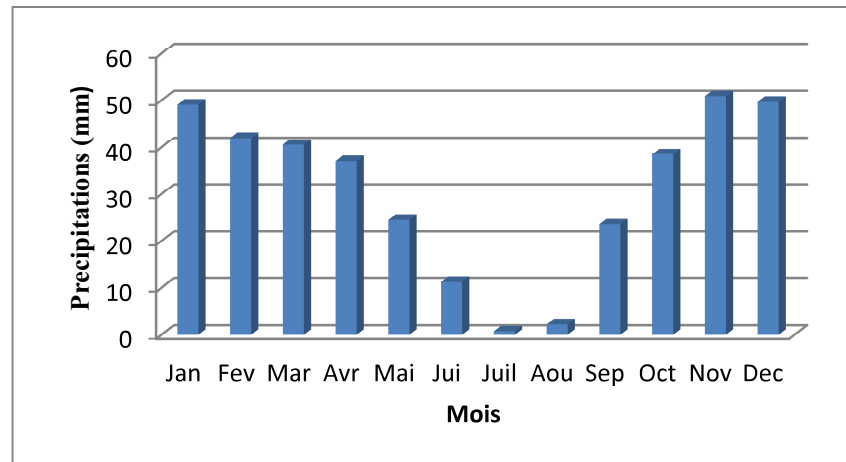


Figure 4 : Variation des moyennes mensuelles des précipitations

4.2. Températures

Les températures, second facteur constitutif du climat (**Greco, 1966**), sont les plus importantes et conditionnent en grande partie la répartition des végétaux et le cycle de développement des animaux.

Le tableau 2 (**ANNEXES**) présente les valeurs des températures mensuelles de la station de Zenata de la période allant de janvier 2003 à décembre 2013.

Les valeurs des températures moyennes mensuelles de la station de Zenata montrent que les températures sont assez élevées pour les mois de juillet, août et septembre, pendant les années 2003-2013, mais relativement basses pour les autres mois (**ANNEXES**).

Selon l'**Unesco (1963)**, un mois chaud est défini comme un mois où la température moyenne est supérieure à 20°C. Il n'y a aucun risque de gel dans de pareilles conditions. La période chaude est la suite successive des mois chauds. Un mois froid est un mois où la température moyenne est égale ou inférieure à 20°C. La période froide est la suite successive des mois froids.

La période froide dure huit mois, d'octobre à mai, alors que la période chaude est moins longue avec quatre mois, de juin à septembre (**Fig. 5**).

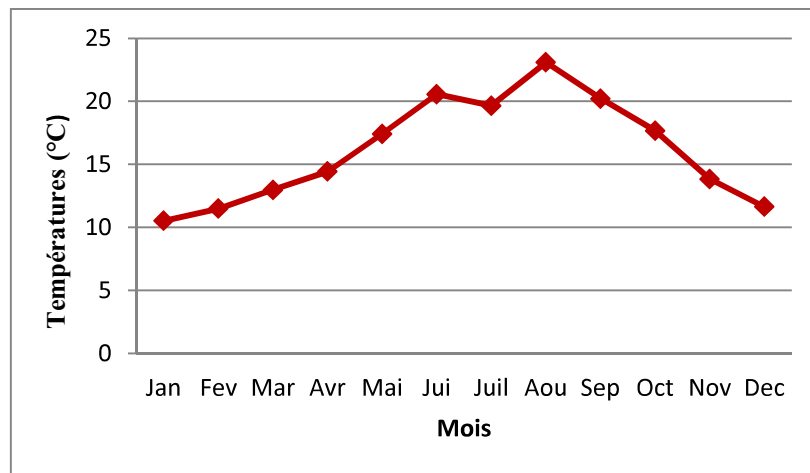


Figure 5: Variation des moyennes mensuelles des températures (2003-2013).

4.3. Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN (1953)

Pour déterminer la durée de la période sèche relative à la station Zenata, nous avons placé les valeurs moyennes des précipitations et des températures en double ordonnées où l'échelle des précipitations est égale au double de l'échelle des températures ($P=2T$), et les mois de l'année en abscisse.

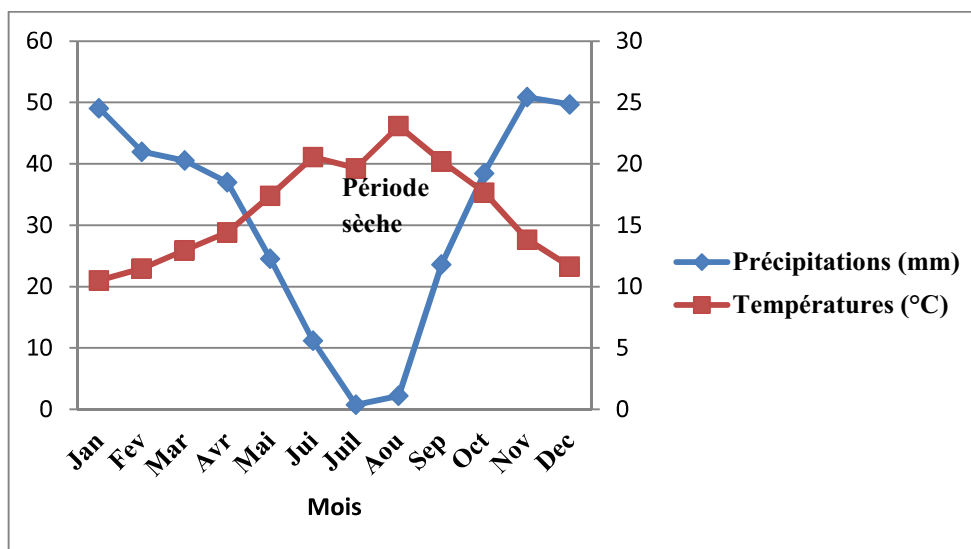


Figure 6 : Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен de la station de Zenata (Période 2003-2013)

L'intersection des deux courbes divergentes des températures et des précipitations fait ressortir la période sèche qui s'étend sur cinq mois et demi allant de la mi-avril jusqu'en septembre (**Fig. 6**).

4.4. Climagramme d'Emberger (1955)

Le quotient pluviothermique d'Emberger est destiné à caractériser le climat méditerranéen. Ce quotient est défini par la formule suivante :

$$Q_2 = 1000 \times P / [M+m (M+m)/2] - 2000 \times P / M^2 - m^2$$

P : précipitations moyennes annuelles.

M : moyennes des températures maximales du mois le plus chaud en °K.

m : moyennes des températures minimales du mois le plus froid en °K.

M-m : Amplitude thermique moyenne (°K)

Avec des précipitations annuelles P de 290,75, une moyenne mensuelle maximale M (273,2+33,5) égale à 306,7°C et un m de (273,2+5,5) ; une température moyenne minimale de 278,7°C, la station de Zenata a un Q₂ égale à 35,47.

Tenant compte de cette valeur et du m, notre aire d'étude se situe dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver tempéré sur le climagramme d'Emberger (**Fig. 7**).

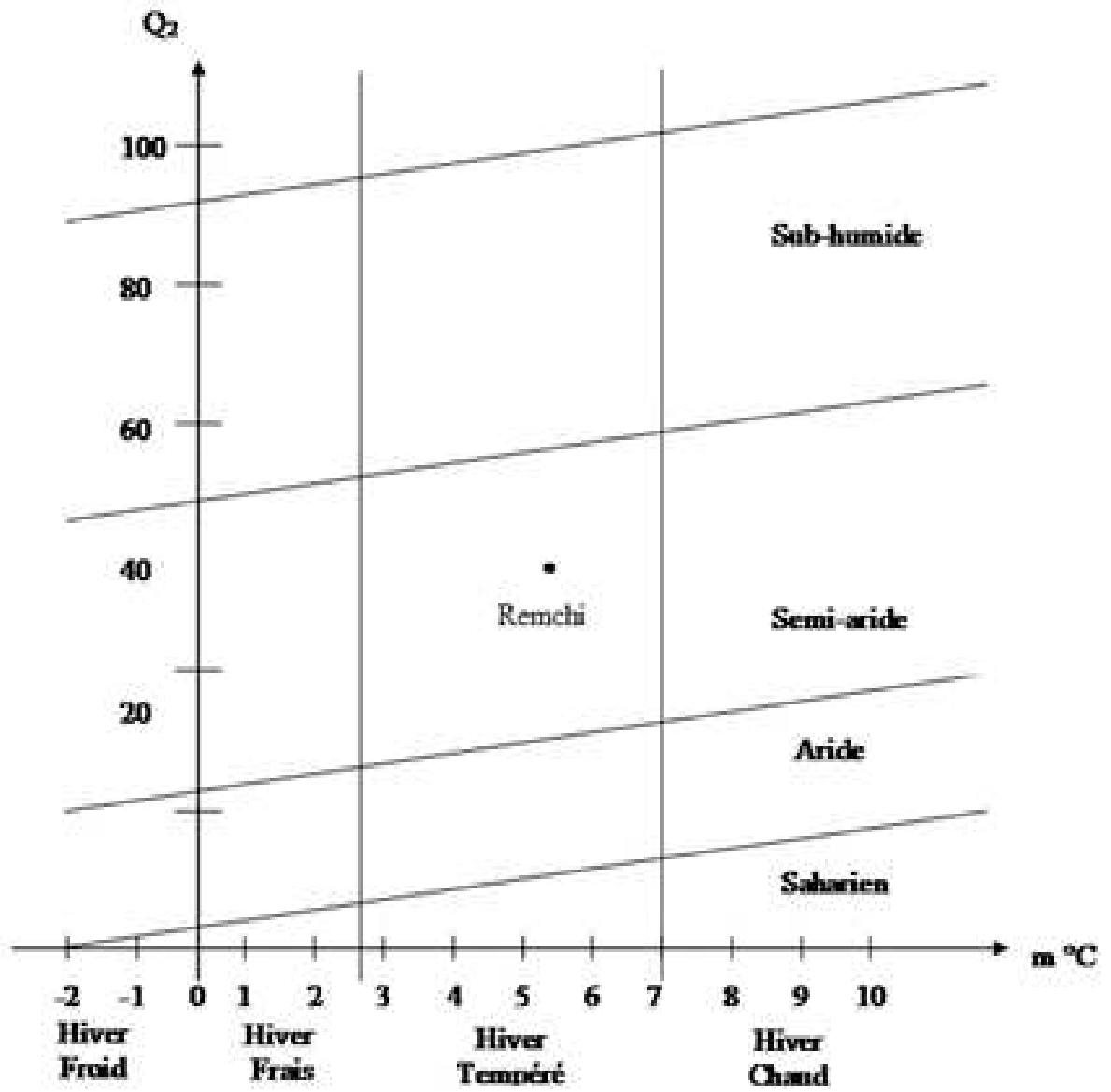


Figure 7 : Climagramme d’Emberger de la zone d’étude

PARTIE II. ÉTUDE ENTOMOLOGIQUE

1. Localisation de la station d'étude

La structure utilisée (champ) pour cette expérimentation se situe à la commune de Hadjret El Gatt (12km de Remchi). C'est une propriété privée qui cultive la tomate depuis plusieurs années (**Photo. 5**).



Photo 5 : la tomate en plein champ (site d'étude)

Le champ cultive la tomate de la variété américaine (B48) planté le 20 septembre 2012. L'épandage d'engrais azotés a été fait le 30 septembre 2012 et le traitement contre le mildiou par un fongicide [Euparen m (50WG)] est appliqué pour éviter l'installation de la maladie ; ainsi qu'un autre type de traitement (Pro-Act 50Ec ; Hexar 50Ec), appliqué contre la tache blanche, maladie cryptogamique due aux thrips.

Le palissage des plants et l'entretien se sont poursuivis durant toute la période de la culture ; la lutte chimique est pratiquée une fois toutes les deux semaines.

2. Matériel végétal et dispositif expérimental sur le terrain**2.1. Echantillonnage**

L'échantillonnage a débuté dès l'apparition des premières mines (attaques) sur les feuilles de la tomate.

La méthode d'échantillonnage utilisée consiste à prélever des feuilles de façon aléatoire ; chaque échantillon récolté est placé dans un sachet en plastique, sur lequel sont mentionnées ses caractéristiques, ensuite les prélèvements sont acheminés directement au laboratoire.

L'observation des échantillons sous une loupe binoculaire permet de déterminer et de dénombrer les différents stades de l'insecte (différents stades larvaires et chrysalides).

Les larves sont isolées à partir des feuilles de la tomate pour faire un inventaire des différents stades de l'insecte, afin d'estimer le taux d'infestation ainsi que pour réaliser les tests de l'activité insecticide.

2.2. Elevage de l'insecte et cycle de développement**2.2.1. Matériel d'élevage**

Pour réaliser l'élevage de l'insecte *Tuta absoluta*, nous avons disposé au laboratoire de quelques matériels : cuvettes en plastiques ; tulle ; substance sucrée ; éponge mouillée ; boîtes de pétri ; pinces ; alcool ; loupe binoculaire.

2.2.2. Méthode d'élevage

La méthode est simple, elle consiste à mettre les feuilles échantillonnées dans des cuvettes contenant du sable pour permettre l'enfouissement des nymphes et des larves issues de ces folioles ; une éponge mouillée assure l'hygrométrie nécessaire au développement des différents stades de l'insecte.

Chaque cuvette est recouverte de tulle pour éviter toute perturbation externe et empêcher les futurs imagos de s'envoler (**Photo. 6**). L'émergence de ces derniers est contrôlée quotidiennement pour les dénombrer et les nourrir par une substance sucrée (miel industriel + eau). Nous essayons de les maintenir en vie dans des bocaux un maximum de temps afin d'estimer leur longévité aux conditions de laboratoire.

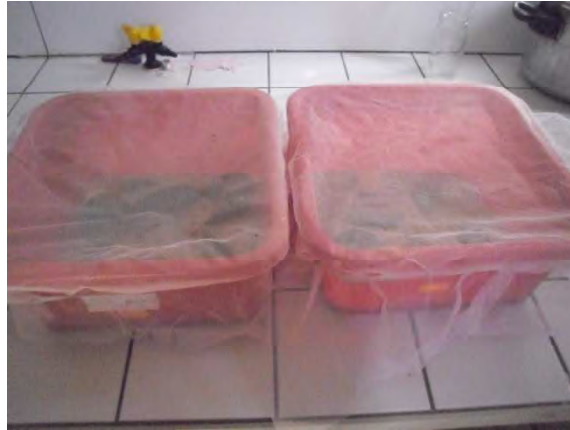


Photo 6 : Dispositif d'élevage au laboratoire

Tous les deux jours, les larves sont dénombrées par un tamisage du sable pendant la période d'étude. Les élevages permettent également de connaître la durée du développement nymphal de l'insecte.

3. Etude statistique des données

3.1. Corrélacion et régression

➤ Coefficient de corrélation linéaire

Pour savoir s'il existe une relation entre les larves et les adultes, les larves et les pupes et les adultes, nous avons calculé les coefficients de corrélation linéaire, deux à deux.

Principe : pour établir une relation d'indépendance X et Y , il suffit de calculer le coefficient de corrélation. Si $F_{obs} > F_{th}$, la corrélation entre les deux variables est jugée significative ; il existe alors une dépendance statistique entre elles.

➤ Droite de régression

S'il existe une corrélation significative entre les variables X et Y , on peut établir une droite de régression. Elle permet d'estimer des valeurs de Y connaissant certaines valeurs de X ce qui nous permet de prédire l'évolution ou l'effectif de l'un des stades en connaissant ceux de l'autre, si r^2 est positif.

Nous avons traité nos données avec le logiciel Microsoft Excel 2007 et le Minitab 15.

3.2. Essais biologiques

Les larves soumises aux tests de toxicité proviennent d'un élevage de plein champ. Les feuilles attaquées sont directement acheminées au laboratoire afin d'en prélever les larves.

La méthode adoptée est celle de « **Leaf-dip Bioassay** » ; décrite par **Cahill et al. (1996)** modifiée. Dix larves de *T. absoluta* sont déposées délicatement en utilisant un pinceau fin dans une boîte de Pétri entomologique (90mm) contenant du papier filtre.

Les différentes doses de l'huile essentielle de *T. capitatus* et de *T. articulata* testées sont pulvérisées sur le papier filtre. La première boîte de Pétri est considérée comme témoin et traitée par de l'eau distillée. Nous n'avons pas effectué des tests de toxicité par l'huile essentielle de *D. crinitus* sur les larves car nous n'en avons plus suffisamment.

Pour chaque essai des doses testées et du témoin, nous avons effectué trois répétitions.

La même méthode est adoptée pour les larves de *T. absoluta* en utilisant des doses d'hydrolats de *T. capitatus* et de *T. articulata* avec trois répétitions également.

3.3. Estimation de la toxicité des traitements

L'évaluation de l'effet toxique des traitements biologiques est estimée par la comparaison des populations résiduelles (PR) selon le test de Dunnett. Le pourcentage des populations larvaires résiduelles de *Tuta absoluta* est exprimé par le rapport suivant :

$$\text{PR (\%)} = \frac{\text{nombre des formes vivantes dans les lots traités}}{\text{nombre des formes vivantes dans les lots témoins}}$$

Lorsque **PR < 30%** : la molécule bioactive est toxique ;

30% < PR < 60% : la molécule est moyennement toxique ;

PR > 60% : l'effet toxique de la molécule est faible ou neutre.

PARTIE III : ÉTUDE PHYTOCHIMIQUE

La partie expérimentale est réalisée dans deux laboratoires de recherche : d'écologie (Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Faculté S.N.V.S.T.U.) et de chimie (Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) Département de Chimie, Faculté des Sciences) pendant la période allant de décembre 2011 à juin 2014. La composition chimique des huiles essentielles est effectuée dans l'Université de Corse (UMR CNRS 6134), au Laboratoire de Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, BP 52, 20250 Corte (France).

1. Identification des plantes aromatiques

Les échantillons de chaque espèce de plante sont collectés en 2011, dans trois stations situées dans la wilaya de Tlemcen. Les échantillons de *Tetraclinis articulata* (Thuya) sont prélevés dans la région de Oudjlida (**Photo 7**). La récolte est effectuée en décembre et janvier. Les échantillons de *Thymus capitatus* sont récoltés dans la région de Hennaya (**Photos 8**) à la même période. Les échantillons de *Daucus crinitus* sont prélevés dans la région de Béni Snous en mai et juin.



Photo 7 : *Tetraclinis articulata* dans la région de Oudjlida (Tlemcen)



Photo 8 : Champ de *Thymus capitatus* dans la région de Hennaya (Tlemcen)

Les deux espèces de *T. capitatus* et *T. articulata* ont été identifiées par le Professeur N. Benabadji de l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen. L'identification de la plante *D. crinitus* a été faite par le Professeur Bouazza de l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (**Pharmacopée Européenne, 2004**).

400g de matière végétale sont introduits dans un ballon imprégné d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 4 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant, se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter. L'eau aromatique et l'huile essentielle se séparent par différence de densité (**Photo 9**).



Photo 9 : Montage d'hydrodistillation

L'huile essentielle est récupérée du haut de l'essencier à l'aide d'une pipette Pasteur, puis stockée à 4°C dans des piluliers en verre opaque, fermées hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température, qui sont les principaux agents de dégradation. Une huile altérée perd son activité biologique.

2.1 Calcul du rendement

Le rendement en H.E. est le rapport entre le poids de l'H.E. extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = (Ph / Pv) \times 100$$

R : rendement de l'huile essentielle en % ;

Ph : poids de l'huile essentielle en gramme ;

Pv : poids de la biomasse végétale en gramme.

2.2. Caractéristiques des huiles essentielles

La caractérisation d'une essence consiste à :

- vérifier ces caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur, saveur) ;
- déterminer ses indices physiques (densité, indice de réfraction) ;

- obtenir son profil chromatographique et une quantification relative de ses différents constituants.

2.3. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM

Nos échantillons des huiles essentielles sont analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Cette technique est très utilisée dans l'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles. L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles est réalisée au niveau du Laboratoire de Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, BP 52, 20250 Corse (France).

3. Préparation des extraits

Cinq solvants (hexane, éthanol, chloroforme, éther de pétrole et eau) sont utilisés successivement afin d'extraire les différentes familles de composés chimiques dans un extracteur continu de Soxhlet.

L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide-liquide (**Photo 10**). Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé avec le réfrigérant, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation du solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant. Ainsi, 30 à 60 grammes de matière végétale pulvérisée sont extraits par 200 mL de solvant pendant 3 à 4 heures, jusqu'à épuisement total. Il est nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extraits.

Dans notre étude, nous avons préparé cinq extraits pour faire des tests de l'activité biologique qui sont : Hexane, Chloroforme, Ether de pétrole, Ethanol et l'extrait aqueux.



Photo 10 : Extracteur de Soxhlet

Les solutions récupérées sont évaporées à l'aide d'un évaporateur rotatif (**Photo 11**). Après le calcul des rendements, les extraits secs sont repris dans leurs solvants pour subir les différents tests phytochimiques et biologiques.



Photo 11 : Evaporateur rotatif

3.1. Calcul du rendement

Le rendement est le rapport de la quantité de l'extrait recueilli après extraction sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage.

$$\text{Rdt (\%)} = \text{P1-P2} / \text{P3} \times 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation ;

P2 : poids du ballon avant évaporation (vide) ;

P3 : poids de la matière végétale de départ.

PARTIE VI : ETUDE MICROBIOLOGIQUE**1. Matériel fongique**

Les différents champignons utilisés dans ce travail sont des espèces fongiques responsables des pourritures, ils ont été isolés directement des plants de tomate prélevés du champ étudié, dans la région de Hadjret El Gat (site d'étude).

– *Fusarium oxysporum*

– *Aspergillus niger*

– *Pinicillium sp1 et Pinicillium sp2*

– *Alternaria solani*

-*Botritis cinerea*

-*Trichoderma sp*

Ces différentes souches fongiques sont isolées à partir des feuilles et des fruits des tomates, elles sont régulièrement entretenues par repiquage sur le milieu nutritif PDA (*Potato Dextrose Agar*).

2. Tests de confirmation des souches fongiques**2.1. Isolement des moisissures à partir de la tomate**

Pour isoler la mycoflore des échantillons de tomate, nous avons utilisé deux méthodes :

2.1. 1. Méthode de dilution

De chaque échantillon, 5g de tomate broyée ou non sont additionnés à 45 ml d'eau physiologique, ce qui correspond à la dilution 10^{-1} . Ensuite, 1 ml de cette dernière est ajouté à 9ml d'eau physiologique pour avoir la dilution 10^{-2} .

Des boites de Pétri contenant les milieux : PDA, PDAac., sont ensemencées avec 1ml des dilutions ; le surnageant est éliminé après 10 à 15mn et l'incubation dure 5 à 7j à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$.

L'ajout de l'acide lactique (25%) à raison de 1 à 1,5ml par flacon ($\approx 200\text{ml}$) empêche le développement des bactéries. De plus, il ralentit la croissance des moisissures à croissance rapide et donne plus de chance d'isoler les moisissures à croissance lente.

2.1.2. Méthode d'Ulster

Dans cinq boites de Pétri tapissées de papier filtre humidifié, on dépose des petits morceaux de feuille par boite. L'observation des moisissures est réalisée après 5 à 7j à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$. Les souches isolées subissent des repiquages successifs sur milieu PDAac afin de les purifier.

2.2. Identification**2.2.1. Identification des genres**

L'identification des genres de moisissures repose sur :

✓ Des caractères cultureux (macroscopiques) : vitesse de croissance, couleur et texture de thalle,...

✓ Des observations microscopiques : réalisées par la méthode de microculture (**Haris, 1989**) ou de scotch et en se référant au manuel de **Barnett et Hunter, 1972** et **Breton in Larpent, 1990**; cette méthode consiste à :

-ensemencer les souches sur des morceaux de PDAac. Porter sur des lames stériles. Ces morceaux sont coupés à partir d'une boite coulée en couche épaisse pour éviter la déshydratation ; ensuite une lamelle est déposée sur l'inoculum. Les lames sont déposées dans une enceinte tapissée avec du papier imbibé avec de l'eau.

-après 2 à 3 jours d'incubation à $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$ sur de nouvelles lames stériles, on dépose 2 à 3 gouttes de lactophénol ou bleu de coton pour permettre le gonflement du mycélium et faciliter

l'observation microscopique des mycéliums collés sur la lamelle enlevée des morceaux de PDAac. ; l'observation se fait x10, x40 et x100.

2.2.2. Identification des espèces fongiques

L'identification des moisissures a été faite avec l'aide de monsieur **Larbi Belyagoubi**, enseignant à l'Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen).

2.3. Conservation des souches fongiques

A partir des souches identifiées, faire des repiquages dans des tubes de PDA de conservation puis incuber à 28°C pendant 7 jours. Les tubes sont conservés dans le réfrigérateur à 6°C et les repiquages sont réalisés tous les 15 jours. Un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de Pétri contenant le PDA, puis incubés à 28°C pendant 7 jours.

3. Etude de l'activité antifongique

3.1. Tests « *in vitro* » : activités antifongiques des huiles et des extraits du *Thymus capitatus*, *Tetraclinis articulata* et *Daucus crinitus*

Pour évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles et des extraits, nous avons adopté une seule méthode, celle de la diffusion sur milieu PDA, en utilisant des disques stériles en cellulose. Le principe de la méthode repose sur la diffusion du fragment mycélien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antifongique sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction du diamètre de diffusion.

3.1.1. Protocole expérimental

Des dilutions sont préparées dans des tubes à essai contenant chacun 13,5 ml du milieu PDA stérilisé à l'autoclave (20 min à 121 °C) et refroidi à 45 °C ; on ajoute l'huile essentielle de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations finales. Puis on agite fortement les tubes avec le vortex pour avoir un liquide homogène, avant de les verser dans des boîtes de Pétri. Des témoins, contenant le milieu de culture et du DMSO, et d'autres seulement le

milieu PDA (contrôle) sont également préparés. Pour les extraits, nous avons utilisé la même méthode et nous avons dilué les extraits par du DMSO.

3.1.2. Dépôt de disques

L'ensemencement se fait par dépôt de fragments mycéliens de 6mm de diamètre (disques de référence prélevés à partir de la périphérie d'un tapis mycélien et provenant d'une culture de 7 j) au centre des boîtes de Pétri. Elles sont ensuite fermées, puis laissées pour diffuser à température ambiante et mises dans une étuve. L'incubation se fait à l'obscurité pendant 7 j à 25 °C. Chaque essai est répété trois fois.

3.1.3. Lecture

La lecture se fait par la mesure, à l'aide d'une règle, du diamètre de la zone de diffusion autour de chaque disque. Les résultats sont exprimés par le calcul de l'indice antifongique (Pourcentage d'inhibition) déterminé par la formule de (Albuquerque et al., 2006) :

$$\text{Indice fongique (Pourcentage d'inhibition)} = (\text{Dc} - \text{Dt}) / \text{Dc} \times 100$$

Dc : Diamètre des mycéliums du contrôle ;

Dt : Diamètre des mycéliums traités.

3.2. Tests « in vivo » Activité antifongique des hydrolats de *Thymus capitatus* et *Tetraclinis articulata*

Nous avons réalisé des tests de l'activité antifongique directement sur les tomates, à partir des hydrolats de deux plantes *Thymus capitatus* et *Tetraclinis articulata*.

3.2.1. Protocole expérimental :

- Choisir les fruits de la même taille autant que possible ;
- désinfecter leurs surfaces par une immersion pendant 1 min dans une solution éthanolique à 70% ;
- rincer 2 fois par une immersion à l'eau distillée stérile pendant 10 minutes ;

- laisser sécher 3 minutes dans un endroit sec (entre 2 becs benzène) ;
- Immerger les fruits dans l'hydrolat pendant 5 min ; 500 ml pour l'hydrolat du thym et 50ml pour celui du thuya (nous en avons une quantité limitée) ;
- laisser sécher dans un endroit sec et stérile ;
- préparer une suspension fongique à 10^6 spores/ml grâce à un hématocytomètre ou une cellule Thomas (spores + eau distillée + Tween 80 à 0,5%) ;
- inoculer la suspension fongique (100 μ l) dans le trou ;
- mettre dans des boites hermétiques en mettant un b cher rempli d'eau distillée stérile pour garder un taux d'humidité ;
- incuber ;
- mesurer le diamètre des moisissures.

4. Etude de l'activité antibactérienne :

Le choix des bactéries a été porté sur cinq souches phytopathogènes, isolées à partir des tomates prélevées dans notre site d'étude ; l'identification de ces souches est réalisée par le laboratoire de Biotechnologie et Valorisation de Bio-Géo Ressources (BVBGR : LR11ES31) de l'Institut Supérieur de Biotechnologie (Sidi-Thabet) en Tunisie car nous manquons de moyens matériels pour le faire à notre niveau (Séquenceur, PCR.....).

4.1. Milieux de culture

Suivant les méthodes employées, et selon les souches, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants :

- Gélose nutritive (GN) ;
- gélose Mueller Hinton ;
- milieu King A et King B ;
- bouillon nutritif (BHB).

4.2. Tests de confirmation des souches bactériennes

Les souches utilisées ont été confirmées au préalable par le laboratoire de Biotechnologie et Valorisation de Bio-Géo Ressources en Tunisie. Nous avons tenu à vérifier leur pureté par les caractéristiques cellulaires, par quelques tests biochimiques et culturaux.

Après ensemencement des bactéries sur leurs milieux, la coloration de gram est réalisée après incubation à 37°C pendant 24 heures. L'étude des caractères morphologiques recherchés par la coloration de Gram et l'examen microscopique au grossissement 1000x permettent l'observation du mode de regroupement, la forme des cellules bactériennes et le type de Gram.

La coloration de Gram selon la méthode décrite par **Dellarras (2007)** est réalisée comme suit :

- Préparer un frottis de la souche testée ;
- recouvrir le frottis de violet de Gentiane, laisser agir une minute puis rincer à l'eau distillée ;
- verser du lugol et laisser agir pendant une minute, rincer à l'eau distillée ;
- décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes puis rincer à l'eau distillée ;
- recolorer avec de la fuchsine pendant 10 à 30 secondes puis rincer à l'eau distillée ;
- sécher au-dessus de la flamme d'un bec benzène ;
- observer au microscope optique à l'objectif x100 à l'immersion.

Les bactéries colorées en violet sont des bactéries à Gram positif (Gram+) et celles colorées en rose sont des bactéries à Gram négatif (Gram-).

4.3. Tests biochimiques

Des tests biochimiques complémentaires sont réalisés pour l'identification des souches étudiées.

➤ test de catalase

Ce test permet de différencier les bactéries à Gram positif de la famille des *Micrococcaceae* qui sont catalase positive, des familles *Streptococcaceae* et *Enterococcaceae* qui sont catalase négative. La catalase agit en dégradant H₂O₂ (eau oxygénée) en H₂O et oxygène qui se manifestent par un dégagement gazeux.

➤ test de l'oxydase

Le test de l'oxydase permet de distinguer les bactéries à Gram négatif, de la famille des *Enterobacteriaceae* à oxydase négative, des *Pseudomonodaceae* à oxydase positive.

L'enzyme oxydase ou phényle diamine oxydase intervient dans la phosphorylation oxydative. La présence de cette enzyme chez la bactérie indique la présence du cytochrome C dans la chaîne respiratoire. Sur le disque d'oxydase imprégné de N-diméthyl paraphénylène diamine (incolore), les bactéries qui produisent l'enzyme de l'oxydase oxydent le réactif en formant l'indophénol (un composé violet).

4.4. Conservation des souches

A partir des souches identifiées, nous avons effectué des repiquages dans des tubes de gélose de conservation en pique centrale, puis nous les avons incubés à 37°C pendant 24 heures. Les tubes sont ensuite conservés dans le réfrigérateur à 6°C et les repiquages sont réalisés tous les 15 jours.

4.5. Préparation de l'inoculum

4.5.1. Préparation de pré-culture

Les tests antibactériens sont réalisés à partir des cultures jeunes (18 à 24 heures) en phase exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide (BHIB). Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) puis incubés à 37°C pendant 18 heures.

4.5.2. Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur gélose nutritive, nous prélevons 3 à 5 colonies identiques et bien isolées dans 5ml d'eau physiologique stérile puis nous agitons au vortex pendant quelques secondes.

La standardisation de la suspension de 10^6 UFC/ml est réalisée par un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. Selon Mac Farland, on admet une DO comprise entre 0.08 et 0.1 correspondant à une concentration de 10^7 et 10^8 germes/ml ; la suspension d'inoculum est diluée à 1 :10 dans de l'eau distillée stérile pour avoir une concentration de 10^6 germes/ml.

4.6. Etude de l'activité antibactérienne

4.6.1. Tests « *in vitro* »

Pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, nous avons adopté deux méthodes :

- La méthode de diffusion en puits. C'est une méthode proposée par **Cooper et Woodman en 1946** et reprise par **Shroeder et Messing en 1949**. Elle assure une diffusion radiale de l'huile essentielle, à partir d'un puits, en donnant une zone d'inhibition claire, facilement mesurable.

La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution d'huile essentielle de concentration connue. L'huile essentielle diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Eymard, 2003**).

- La méthode de diffusion sur milieu gélosé : utilisant des disques stériles en cellulose appelés aromagrammes. Le principe de la méthode par titrage des antibiotiques est décrit par **Rota et al. (2004)**.

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante selon le diamètre (**Figure 8**) :

- * Non sensible (-) ou résistante : diamètre inférieur à 8mm ;
- * Sensible (+) : diamètre entre 9 et 14mm ;
- * Très sensible (++) : diamètre entre 15 et 19mm ;
- * Extrêmement sensible (+++) : diamètre supérieur à 20mm.

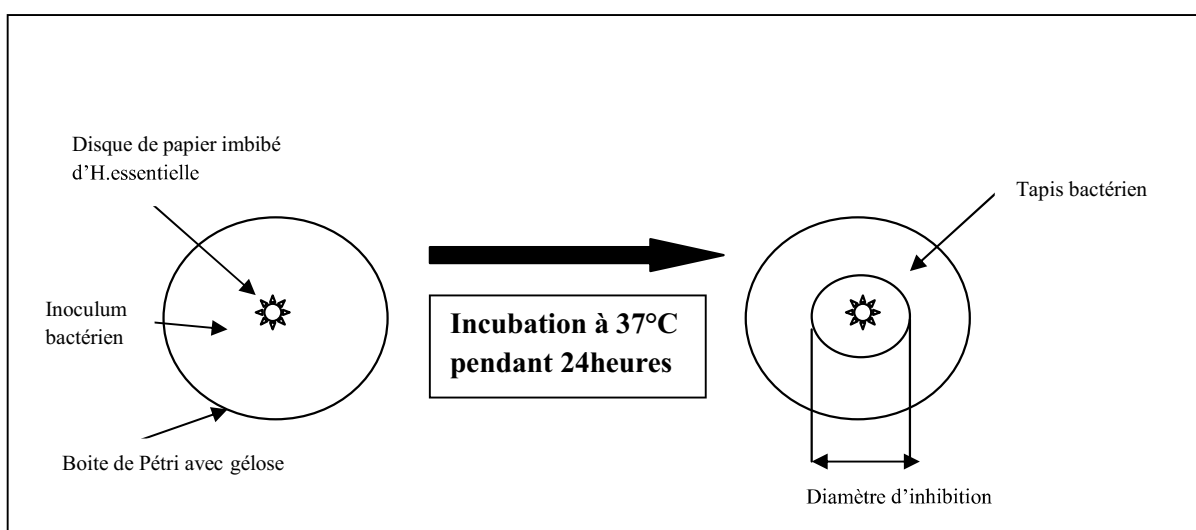


Figure 8 : Principe de la méthode de diffusion sur disques de gélose

- **Protocole expérimental**

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosée Muller Hinton (M.H) ou par gélose nutritive en surfusion dans des boites de Pétri à raison de 15ml par boite. Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse ; avec l'anse de platine ensemercer jusqu'à épuisement de la boite par la culture bactérienne.

- **Dépôt de disques**

A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque de cellulose stérile (disque de référence : papier filtre MN640w, MACHEREY-NAGEL gmbh et Co. KG Germany. Diamètre, 6mm) et l'imbiber avec de l'huile essentielle (non diluée) à tester, en mettant seulement en contact le bout du disque ; celui-ci va absorber progressivement l'H.E jusqu'à imprégnation totale du disque, puis déposer sur la gélose. Les boites de Pétri sont ensuite fermées, laissées diffuser à température ambiante pendant 30 minutes et mises dans une étuve à une température de 32C° pendant 24 heures. Dans les boites de contrôle, les disques sont trempés dans de l'eau distillée stérile. L'expérience est répétée trois fois pour chaque huile essentielle et pour chaque bactérie.

- **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité de ces souches bactériennes vis-à-vis des huiles essentielles (**Ponce et al., 2003**).

* Non sensible (-) ou résistante : diamètre inférieur à 8mm ;

* Sensible (+) : diamètre entre 9 et 14mm ;

* Très sensible (++) : diamètre entre 15 et 19mm ;

* Extrêmement sensible (+++) : diamètre supérieur à 20mm.

4.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'utilisation des huiles essentielles dans les produits alimentaires est souvent limitée par des effets indésirables (forte odeur, changement de goût) qu'elles peuvent engendrer dans l'aliment ; pour cette raison, il est nécessaire de déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice) de l'huile essentielle capable d'inhiber la croissance des bactéries sans altérer les caractéristiques organoleptiques de l'aliment. Selon l'effet recherché et les bactéries ciblées, la concentration ne sera pas la même (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Selon **Skandamis et Nychas (2001)**, la CMI est définie comme étant la plus faible concentration de l'H.E. capable d'induire une réduction de la croissance bactérienne de 90% ; ne laissant donc survivre que 10% de la population.

- **Préparation de la gamme de dilution par microplaques :**

Les CMI sont déterminées par la méthode de microdilution en milieu liquide, dans des plaques de microtitration de 96 puits (**Santos et Hamdan, 2005**).

- **Préparation de la suspension bactérienne**

Les suspensions bactériennes sont préparées à partir de l'eau physiologique stérile et de colonies bactériennes. La suspension obtenue est ensuite mesurée par un spectrophotomètre pour avoir une concentration de 10^6 à 10^8 UFC/ml et une DO (Densité optique) entre 0.08 et 0.1.

- **Préparation des solutions mères**

La solution mère contient au total un volume de 300 μ L : 100 μ L de bouillon nutritif auxquels on ajoute 100 μ L d'huile essentielle et 100 μ L de la suspension bactérienne.

- **Procédure**

Nous avons introduit dans chaque puits 100 μ L de bouillon nutritif (BNHB). Le premier puits, témoin, est rempli par 100 μ L de bouillon nutritif et 100 μ L de suspension bactérienne pour un volume totale de 200 μ L. le deuxième puits, qui est la solution mère, contient 100 μ L de BNHB, 100 μ L d'huile essentielle et 100 μ L de suspension bactérienne. A partir de cette

solution mère, commence la dilution de demi en demi (de 100 μ l à 50 μ l, 25 etc....) jusqu'au dernier puits de la deuxième ligne de la plaque.

Les plaquesensemencées des différentes bactéries sont recouvertes de papier aluminium puis incubées à 30 °C dans une étuve pendant 24 heures. Au terme de cette période, la croissance bactérienne est vérifiée. La CMI est définie comme la plus petite concentration pour laquelle il n'y a pas eu apparition ou dépôt de bactérie dans le puits.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS

1. Etude entomologique

Dans notre étude, nous avons commenté les résultats obtenus à partir des élevages de la mineuse *Tuta absoluta* (cycle évolutif, durée de développement des différents stades, longévité des adultes et sex-ratio).

1.1. Biologie des populations de *Tuta absoluta* à partir des élevages

Les élevages effectués au laboratoire durant la période d'étude nous ont permis de connaître la date d'émergence des adultes, leur longévité, leur sex-ratio ainsi que les durées de développement des différents stades de l'insecte. Les résultats de ces élevages sont présentés dans le tableau 3 (ANNEXES).

1.1.1. Développement du stade imaginal

Le cycle biologique de *Tuta absoluta* (**Figure 9**) se distingue par quatre phases de développement : l'œuf, les quatre stades larvaires (L1, L2, L3 et L4), le stade nymphal (Chrysalide) et enfin le stade imaginal (Adulte). Les différentes photos du cycle de développement ont été prises sous microscope optique avec l'aide de monsieur Ferouani dans le Laboratoire de Botanique de l'Université de Tlemcen.

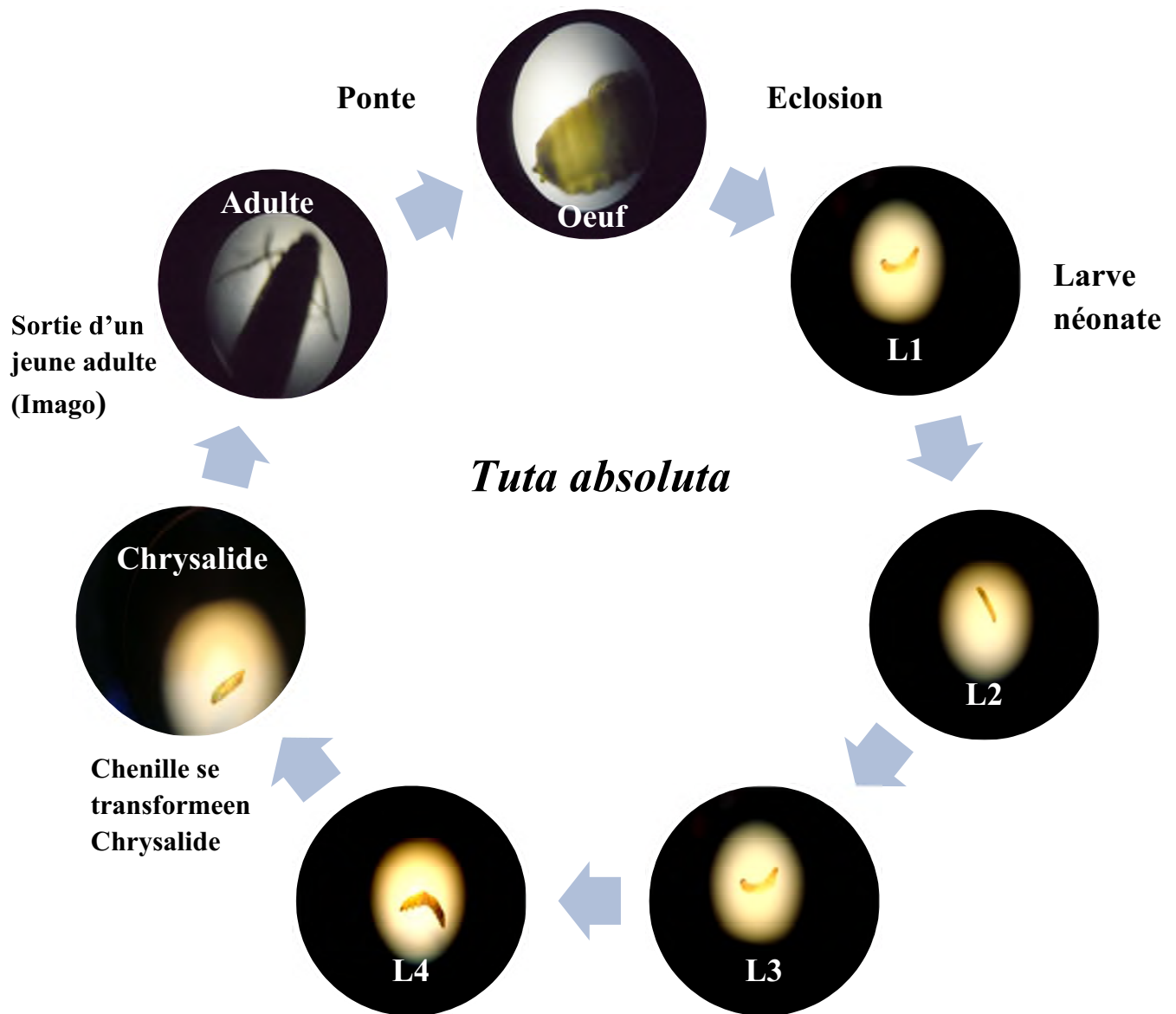


Figure 9 : Cycle de vie de *Tuta absoluta*

Cette étude a permis de mettre en évidence l'impact de la température sur le cycle biologique du ravageur. Trois gammes de températures ont permis d'enregistrer différentes durées de développement (Fig. 10).

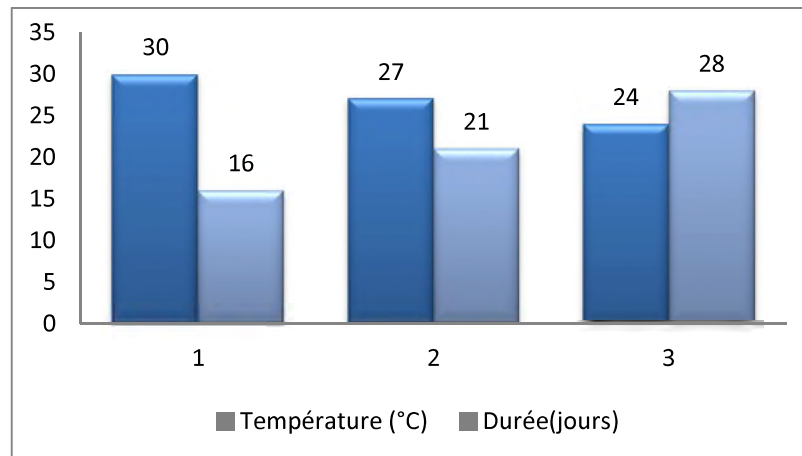


Figure 10 : Durées(en jours) du cycle biologique de *Tuta absoluta*

Le développement du ravageur *Tuta absoluta* montre une différence au niveau de la durée totale du cycle de vie de la mineuse selon les dates de mise en élevage. Nous remarquons que plus la température est élevée, plus la durée de développement est courte.

A la température de $30\pm 1^{\circ}\text{C}$, nous enregistrons la durée du développement de *Tuta absoluta* la plus courte, avec 16 jours. Par contre, la durée la plus longue est de 28 jours à une température ambiante de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Une durée de vie de 21 jours est enregistrée à une température de 27°C .

1.1.2. Longévité des stades adultes

La longévité des stades adultes est un paramètre important à prendre en considération dans l'étude du cycle biologique. Les adultes femelles présentent une longévité de 8 à 16 jours, avec une moyenne de 12.6 et de 6 à 13 jours pour les adultes mâles avec une moyenne de 8.9 jours (Tab. 4).

Tableau 4: Longévité des adultes de *Tuta absoluta* (jours)

	Longévité (jours) des mâles et des femelles	
	Femelles	Mâles
Minimale-maximale	8-16	6-13
Moyenne + Ecart type	12.6±2.31	8.9±1.96

Comme pour la majorité des Arthropodes, les femelles ont une durée de vie plus importante que les mâles.

1.1.3. Sex-ratio

Le sex-ratio permet de connaître le nombre de mâles et de femelles émergés ainsi que le rapport femelles/mâles, obtenus lors des élevages (**Fig. 11**), pour nos élevages il est de 1.69.

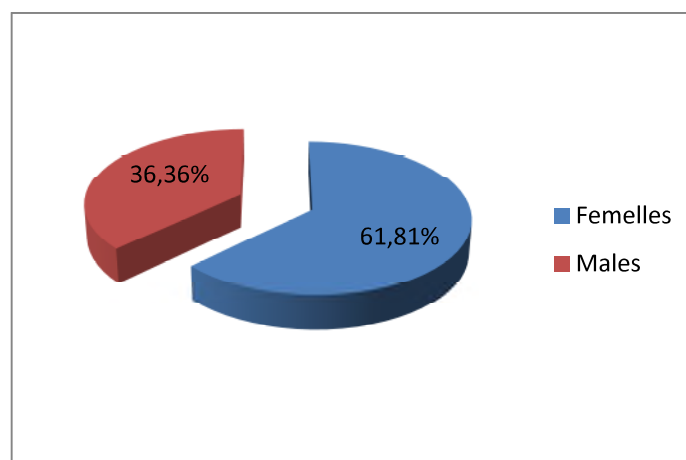


Figure 11 : Sex-ratio de *Tuta absoluta* à partir des élevages

1.1.4. Développement nymphal

Les élevages menés au laboratoire ont permis de connaître la durée de la nymphose qui varie selon la date de mise en élevage, et par conséquent des températures y afférant (**Fig. 12**) jusqu'à obtenir de jeunes papillons (imagos) de *Tuta absoluta*.

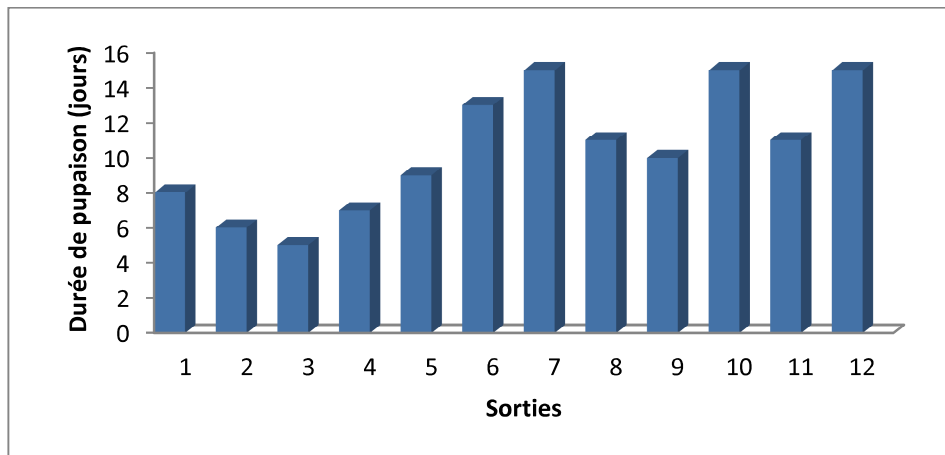


Figure 12 : Durées moyennes de pupaison chez *Tuta absoluta* à partir des élevages

Le développement nymphal de *Tuta absoluta* dure 10,41 jours en moyenne pour nos élevages. Cependant, il présente des variations aux différentes dates, principalement dues aux variations thermiques et hygrométriques qui leur correspondent.

1.1.5. Mortalité nymphale

Le taux d'émergence des adultes représente 80%, donc la mortalité nymphale chez *Tuta absoluta*, estimée à partir des élevages effectués au laboratoire, est de 20% (Fig. 13).

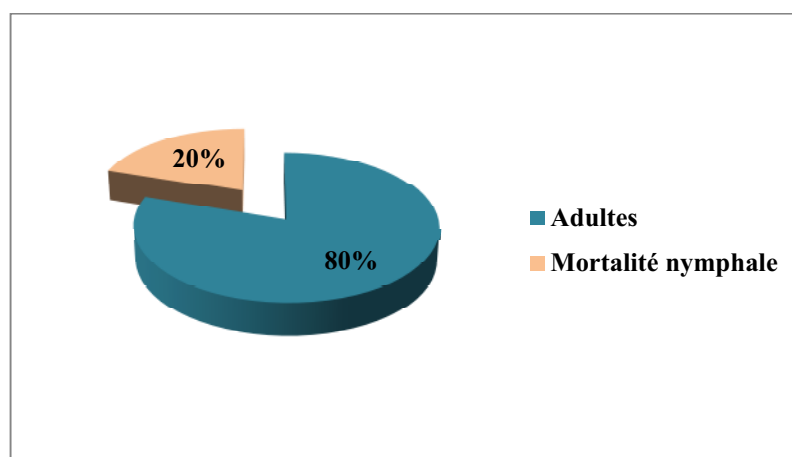


Figure 13 : Taux de mortalité nymphale chez *Tuta absoluta* à partir des élevages

Ce taux de mortalité est relativement faible, cela peut être expliqué par les conditions favorables du laboratoire où sont effectués nos élevages.

1.1.6. Mortalité larvaire

Dans nos prélèvements, nous n'avons pas trouvé un nombre important de larves. Cela est principalement lié à l'utilisation excessive des insecticides.

Durant la période d'étude, à partir des élevages effectués au laboratoire, les chrysalides obtenues à partir des larves contenues dans les feuilles de la tomate représentent 90 %, donc la mortalité larvaire est de 10% (Fig.14).

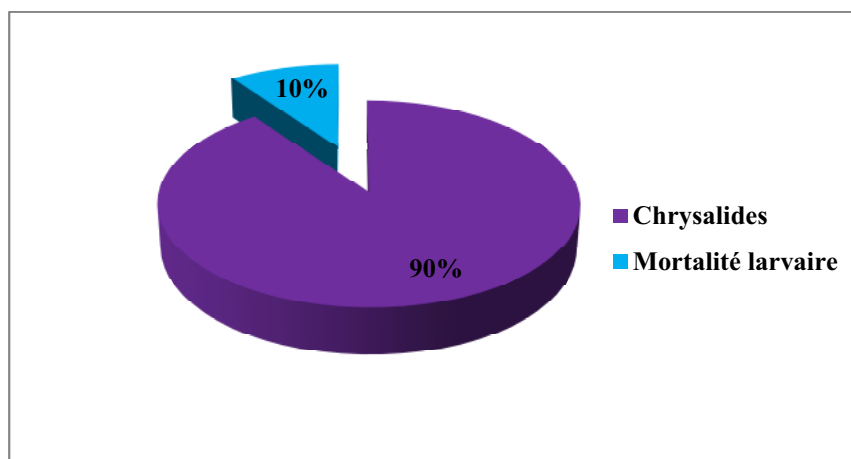


Figure 14 : Taux de mortalité larvaire chez *Tuta absoluta* à partir des élevages

Encore une fois, nous relevons un faible taux de mortalité larvaire, ce qui nous conforte dans notre interprétation selon laquelle les conditions thermiques et hygrométriques du laboratoire dans lequel ont été effectués les élevages ($T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, $\text{HR} \pm 80\%$) sont optimales pour la mineuse *Tuta absoluta*.

1.2. Relation entre les caractères liés à l'infestation

La relation entre les caractères liés à l'infestation des feuilles de tomate par *T. absoluta* a été analysée par la recherche de corrélations linéaires.

1.2.1. Relation entre l'émergence des chrysalides et celle des adultes

L'étude de corrélations linéaires montre qu'il existe une relation significative entre le nombre de chrysalides et celui des adultes émergés avec $R^2= 57\%$ (Fig.15).

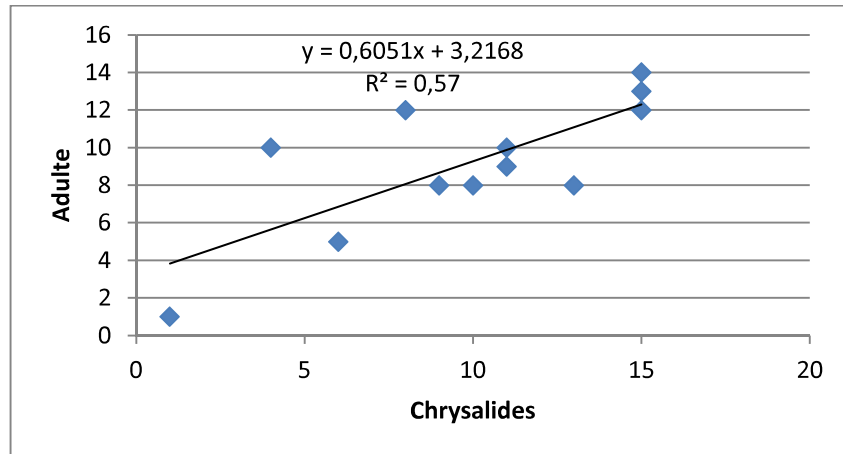


Figure 15 : Droite de régression entre les chrysalides et les adultes

Nous constatons que toutes les valeurs sont proches de la droite de régression, nous pouvons donc prédire le taux d'adultes à partir de celui des chrysalides et inversement.

1.2.2. Relation entre l'émergence des chrysalides et celle des larves

L'étude de corrélations linéaires montre qu'il existe une relation significative entre le nombre de larves et celui des chrysalides avec $R^2=61,03\%$ (Fig.16).

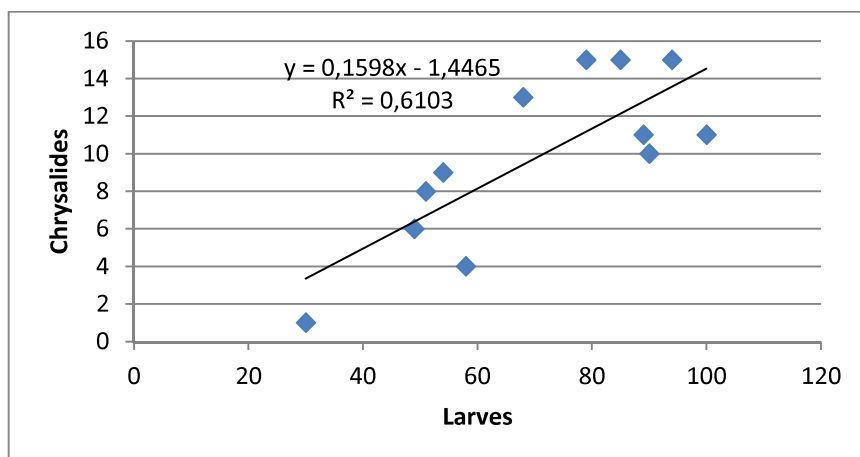


Figure 16 : Droite de régression entre les larves et les chrysalides

Nous constatons que toutes les valeurs sont très proches de la droite de régression, nous pouvons donc prédire le taux de nymphes à partir de celui des larves et inversement.

I.2.2. Relation entre l'émergence des adultes et celle des larves

On remarque une absence totale de corrélations linéaires entre les adultes et les larves qui présentent une corrélation $R^2=39,23\%$.

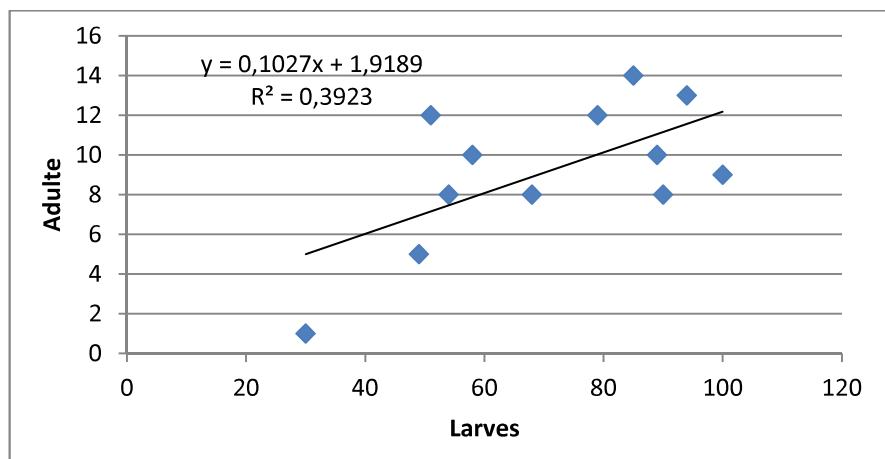


Figure 17 : Droite de régression entre les larves et les adultes

L'absence de corrélation entre les variables se confirme par la droite de régression (Fig.17), dont les points sont très dispersés autour de la droite.

Ce manque de corrélations s'explique par les perturbations que subissent les larves au cours de leur développement, ce qui est très fréquent chez tous les insectes.

2. Etude phytochimique

2.1. Rendement des huiles essentielles de *T. capitatus*, *D. crinitus* et *T. articulata*

Les parties aériennes de *D. crinitus* ont été cueillies dans la zone forestière de Bensekrane (Tlemcen), au stade de la floraison, en Juin 2011. Les parties aériennes de *T. capitatus* ont été cueillies à Beni Snous dans la wilaya de Tlemcen, au stade de la floraison, durant le mois de Juin 2011. Les parties aériennes de *T. articulata* ont été cueillies dans la région de Oujlida, (Tlemcen) au cours du mois de Juin 2011. Les trois espèces de plantes sont stockées à -18 ° C après récolte. Une portion (550 à 600 g) de matière fraîche et sèche de chaque espèce de plante est soumise à une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger selon la Pharmacopée européenne (**European Pharmacopoeia, 2004**). Les huiles essentielles sont séchées sur du sulfate de sodium anhydre et, après filtration, elles sont stockées dans des flacons ambrés stérilisés à 4 ° C jusqu'à leur utilisation.

Tableau 5 : Rendements en huile essentielle de *T. capitatus*, *D. crinitus* et *T. articulata*(moyenne)

Plante	<i>T. capitatus</i>		<i>T. articulata</i>	<i>D. crinitus</i>	
Rendement (%) en	Fraiche	sèche	0.23	Feuille	Racine
Huile essentielle	0.28	2		0.45	0.37

Les résultats présentés dans le tableau 5 montrent que les rendements moyens obtenus de l'extraction par hydrodistillation sont de l'ordre de 0.23, 0.28, 0.37, 0.45 et 2%. Nous remarquons une grande différence dans les rendements entre espèces, et pour une même espèce, selon son état (fraiche ou séchée) et selon ses organes (feuilles ou racines). Si nous rassemblons les rendements pour une même espèce, nous remarquons que *T. capitatus* est très riche en huile essentielle, *D. crinitus* vient en deuxième position et enfin *T. articulata* qui possède le moins d'huile essentielle par rapport aux autres.

2.2. Analyse de la composition chimique

Un total de 26 éléments représentant 99,3% de la composition de l'huile essentielle de *T. capitatus* est identifié par comparaison de leurs spectres EI-masse et leurs indices de rétention (RI) avec ceux des composés authentiques (**Tableau 6**). L'huile essentielle est fortement dominée par des composés oxygénés (74,5%) avec une quantité élevée de composants aromatiques terpéniques (82,6%). Toutefois, les monoterpènes hydrocarbonés sont apparus aussi en proportion appréciable (23.1 %).

Tableau 6: Composition chimique des huiles essentielles de *T. capitatus*, *D. crinitus* et *T. articulata*

No. ^a	Composants	IK		<i>T. capitatus</i>	<i>D. crinitus</i>	<i>T. articulata</i>
01	Nonane	910		-	0.6	-
02	α -Thujene	936		0.2	-	tr
03	α -Pinene	939		0.9	0.5	32.0
04	α -Fenchene	941		-	-	0.6
05	Camphene	953		0.2	-	0.3
06	Oct-1-en-3-ol	962		0.5	-	-
07	Sabinene	976		-	0.6	4.3
08	β -Pinene	980		0.1	0.1	1.4
09	Myrcene	991		2.1	0.6	3.3
10	α -Phellandrene	1005		0.2	-	1.5
11	3-Carene	1011		0.1	-	9.6
12	<i>p</i> -Cymene	1015		12.4	0.2	0.5
13	α -Terpinene	1018		1.7	-	-
14	β -Phellandrene	1028		-	-	1.4
15	Limonene	1031		-	0.9	4.3
16	(<i>E</i>)- β -Ocimene	1041		-	0.6	0.7
17	(<i>Z</i>)- β -Ocimene	1029		0.6	-	-
18	γ -Terpinene	1051		4.3	1.6	0.7
19	(<i>E</i>)-Sabinene hydrate	1051		0.1	-	0.2
20	Nonanal	1076		-	0.1	-
21	Terpinolene	1082		0.2	0.4	3.2
22	(<i>Z</i>)-Sabinene hydrate	1087		-	-	0.8
23	Linalool	1083		1.7	0.2	0.2
24	Undecane	1100		-	4.1	-
25	3-Octyl acetate	1113		-	-	0.2
26	Veratol	1112		-	-	0.1

27	Camphor	1123	0.1	-	-
28	(Z)-Verbenol	1037	-	-	0.3
29	Isoborneol	1143	0.5	-	-
30	Borneol	1148	0.3	-	-
31	Terpinen-4-ol	1177	1.1	0.1	2.0
32	α -Terpineol	1176	0.1	-	0.1
33	Decanal	1188	-	1.4	-
34	Octylacetate	1192	-	2.3	-
35	Linalylacetate	1239	-	-	0.2
36	Bornylacetate	1259	-	-	0.7
37	Thymol	1266	0,6	-	-
38	Carvacrol	1279	69,4	-	-
39	Eugenol	1332	0,1	-	-
40	α -Terpinylacetate	1337	-	-	1.8
41	Dodecanal	1391	-	3.1	-
42	β -Funebrene	1419	-	-	1.6
43	(E)- β -Caryophyllene	1423	1.6	0.6	4.0
44	Thujopsene	1435	-	-	0.2
45	α -Humulene	1455	0.1	-	2.5
46	γ -Curcumene	1475	-	-	0,3
47	Germacrene D	1479	-	-	1,3
48	γ -Humulene	1480	-	0.7	-
49	β -Selinene	1481	-	-	0,1
50	Pentadecane	1500	-	5.1	-
51	δ -Cadinene	1526	-	0.1	0.3
52	β -Elemol	1541	-	-	0,4
53	Isochavicolisobutyrate	1551	-	44.9	-
54	Germacrene B	1556	-	-	0,2
55	Dodecanoicacid	1559	-	1.1	-
56	Caryophylleneoxide	1581	0.1	-	0.4
57	Dodecylacetate	1589	-	2.5	-
58	Globulol	1592	-	-	0.9
59	Cedrol	1599	-	-	11.0
60	Humuleneepoxide II	1605	-	-	0.1
61	epi-Cedrol	1619	-	-	0,2
62	α -Acorenol	1633	-	-	0,3
63	γ -Eudesmol	1629	-	-	0,1
64	τ -Cadinol	1636	-	-	0,2
65	α -Eudesmol	1639	-	-	0,3

66	Isochavicol 2-methyl butyrate	1659	-	9.7	-
67	Bulnesol	1662	-	-	0,2
68	Heptadecane	1700	-	3.4	-
69	Tetradecanoicacid	1766	-	3.1	-
70	Cedrylacetate	1769	-	-	0,6
71	Neophytadiene	1806	-	0.4	-
72	Hexadecanoicacid	1963	-	1.1	-
73	Manool	2075	-	-	0,3
74	(E)-Phytol	2123	-	1.7	-
Total identification %			99.3	91.8	95.9
% Hydrocarboncompounds			24.8	20.5	74.3
% Monoterpenehydrocarbons			23.1	5.5	63.8
% Sesquiterpenehydrocarbons			1.7	1.4	10.5
% Non terpenichydrocarnon compounds			-	13.2	-
Diterpenes hydrocarbons			-	0.4	-
% Composants oxygénés			74.5	71.3	21.6
% Oxygenated monoterpenes			3.8	0.3	6.4
% Oxygenated sesquiterpenes			0.1	-	14.7
% Non terpenic oxygenated compounds			0.5	14.7	0.2
% Aromaticcompounds			70.1	54.6	-
Oxygenatedditerpenes			-	1.7	0.3

En effet, les principaux constituants de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* sont le carvacrol (69,4%), p-cymène (12,4%), suivis par le γ -terpinène (4,3%), le myrcène (2,1%), l' α -terpinène (1,7%), le linalol (1,7%) et le terpinène-4-ol (1,1%).

L'analyse de l'huile essentielle des parties aériennes de *Daucus crinitus* a identifié 30 éléments, qui représentent 91,8% de la composition totale. Leurs indices de rétention RI et leurs pourcentages relatifs sont présentés dans le **tableau 6**. Les principaux composants de l'huile des parties aériennes sont les phénylpropanoïdes, principalement l'isobutyrate isochavicol (44,9%). Les autres composants majeurs identifiés sont: isochavicol 2 méthylbutyrate (9,7%), pentadécane (5,1%) et undécane (4,1%) (**Tableau 6**).

Un total de 54 éléments, représentant 95,9% de l'huile totale de *T. articulata* est identifié (**Tableau 6**). Cette huile essentielle est fortement dominée par les monoterpènes hydrocarbonés (63, 8%), suivis par les sesquiterpènes oxygénés (14,7%) et les sesquiterpènes

hydrocarbonés (10,5%). Toutefois, les monoterpènes oxygénés sont apparus en faible proportion (6,4%).

2.3. Résultats des extractions des trois plantes

L'extraction au Soxhlet a été retenue comme technique d'extraction car elle favorise l'extraction relativement complète des métabolites présents dans la matrice végétale. Les extractions au Soxhlet sont effectuées de façon séquentielle, en utilisant des solvants de polarité croissante. Les solvants utilisés sont l'hexane, l'éthanol, l'éther de pétrole, le chloroforme et l'eau. Cette approche d'extraction permet de fractionner grossièrement les divers produits naturels de la matrice végétale.

Les extractions séquentielles des produits naturels de *T. articulata*, *T. capitatus* et *D. crinitus* sont effectuées avec un Soxhlet contenant 40 g de la matière végétale. Les rendements de ces extractions sont répertoriés dans le **tableau 7**.

Tableau 7 : Rendements obtenus avec l'approche séquentielle d'extraction pour les différentes plantes

Espèces	Hexane		Chloroforme		Ethanol		Extrait aqueux	
	Rend (%)	Masse (g)	Rend (%)	Masse (g)	Rend (%)	Masse (g)	Rend (%)	Mass e (g)
<i>T. articulata</i>	12.58	5.20	4.94	4.71	4.95	2.71	3.3	2.14
<i>T. capitatus</i>	0.57	1.05	5.51	2.48	13.17	5.27	5.22	2.3
<i>D. crinitus</i>	3.18	1.60	3.66	-	6.63	3.44	8.56	3.91

Les rendements obtenus montrent des variations importantes entre les espèces. Ces résultats suggèrent que *T. articulata* est riche en composés peu polaires qui ont des affinités avec l'hexane et le chloroforme, avec des rendements de 12.58 et 4.94% respectivement. Cependant, *T. capitatus* et *D. crinitus* semblent riches en composés polaires ayant une forte affinité pour l'éthanol et l'eau, avec des rendements en extractibles de l'ordre de 13,17 % et 6.63 % pour l'extrait éthanolique et 8.56 et 5.22 % pour l'extrait aqueux.

3. Activités biologiques

Dans la recherche de méthodes alternatives de lutte biologique, le règne végétal offre beaucoup de possibilités. De nombreuses études se développent actuellement pour isoler et identifier des composés de plantes qui ont une activité insecticide, antifongique, antibactérienne et/ou antioxydante (Djennan *et al.*, 2002; Bousbia, 2004; Bouzouita *et al.*, 2008; Djennan *et al.*, 2011b).

3.1. Activité insecticide

3.1.1. Effet de l'huile essentielle et de l'hydrolat sur les différents stades larvaires

Dans cette partie, plusieurs facteurs sont pris en considération comme le temps après traitement, les huiles, les hydrolats et les différentes doses appliquées.

3.1.1.1. *Thymus capitatus*

La **figure18** illustre les pourcentages de mortalité des populations larvaires des stades L1, L2, L3 et L4 après l'application de l'huile essentielle de *T. capitatus* à différentes doses.

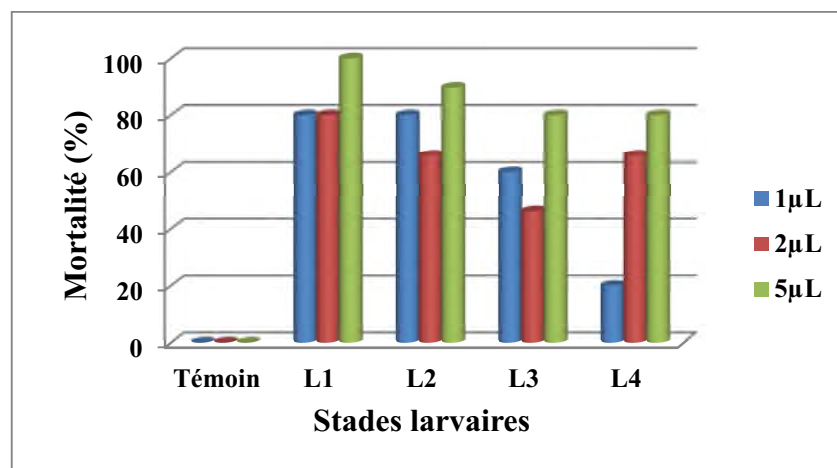


Figure 18 : Effet de l'H.E. de *T. capitatus* sur les différents stades larvaires de *T. absoluta*

Les résultats montrent clairement que les pourcentages de mortalité du témoin sont nuls pour les différents stades larvaires alors que l'effet de l'huile est très actif sur les larves après seulement une heure et demie de temps d'exposition et cela pour toutes les doses testées.

Le taux de mortalité est supérieur à 50% pour les stades larvaires L1, L2 et L3 à une concentration de $1\mu\text{L}$ sauf pour les L4 qui présentent une mortalité faible (20%). A une concentration de $2\mu\text{L}$, la mortalité larvaire des quatre stades est élevée.

Cependant, le taux de mortalité atteint les 80% à une concentration de $5\mu\text{L}$, allant jusqu'à 100% de mortalité pour les larves L1.

3.1.1.2. *Tetraclinis articulata*

La **figure 19** présente les pourcentages de mortalité des populations larvaires des stades L1, L2, L3 et L4 après l'application de l'huile essentielle de *T. articulata* à différentes doses.

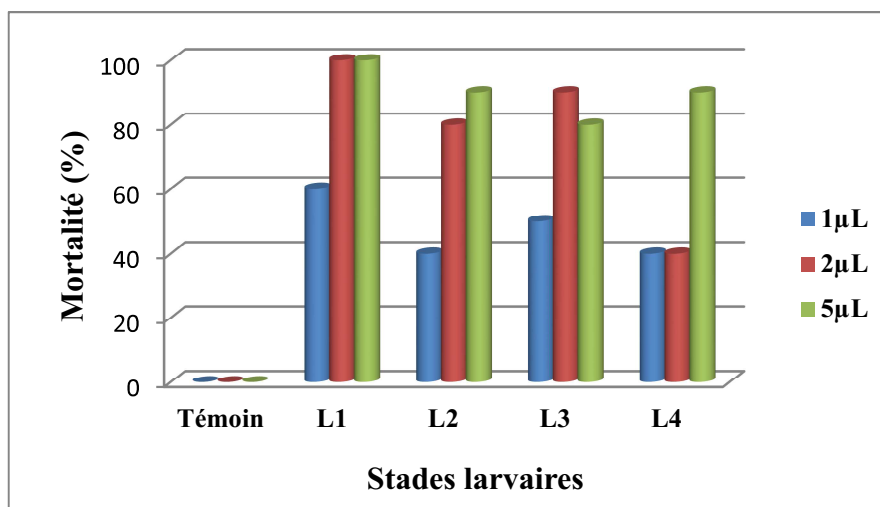


Figure 19 : Effet de l'H.E. de *T. articulata* sur les différents stades de larves de *T. absoluta*

Les larves témoins de cette expérience présentent un pourcentage nul alors que l'action de *T. articulata* sur les larves est rapide sur une phase temporelle d'une heure et demie seulement.

Le taux de mortalité présente les pourcentages supérieurs à 40% à la concentration de 1µL pour les quatre stades larvaires et 80% à la concentration de 2µL pour les stades larvaires L1, L2, L3. A la même concentration, la mortalité des L4 ne dépasse pas les 40%.

Le taux de mortalité est au maximum pour L1 à une concentration de 5µL. les autres stades larvaires présentent un pourcentage supérieur à 80%.

3.1.2. Effet de l’hydrolat des plantes sur les différents stades larvaires

3.1.2.1. *Thymus capitatus*

Dans cette étude, nous avons utilisé l’hydrolat de *T. capitatus* sur les quatre stades larvaires du ravageur *Tuta absoluta*. La figure 20 présente les résultats obtenus après 24 heures.

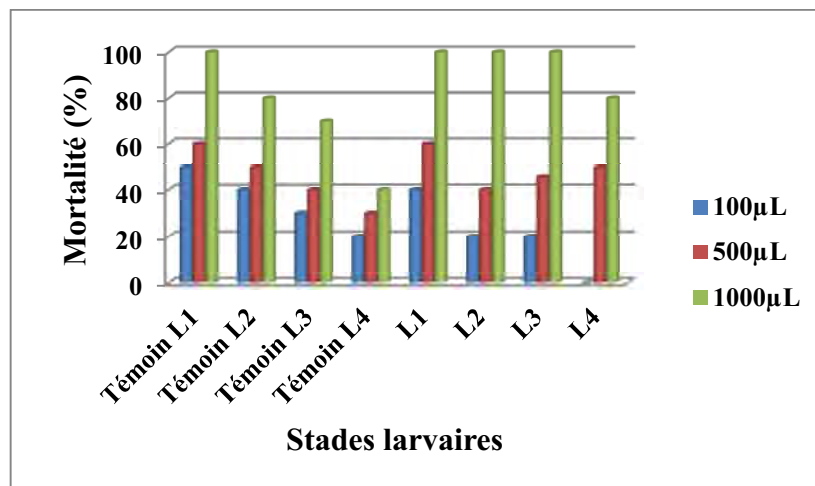


Figure 20 : Effet de l’hydrolat de *T.capitatus* sur les différents stades larvaires

A l’exception des larves L4 traitées, le pourcentage de mortalité est supérieur à 20% à une concentration de 100µL que ce soit pour les larves témoins ou les larves traitées. Ce pourcentage dépasse les 40% à une concentration de 500µL pour les larves témoins et traitées.

Les pourcentages de mortalité des témoins L3 et L4 sont faibles par rapport à ceux des larves traitées qui sont supérieurs à 80% et atteignent même les 100% à la concentration de 1000µL (1ml d’hydrolat).

3.1.2.2. *Tetraclinis articulata*

Le même procédé est utilisé pour l'hydrolat de *T. articulata* sur des larves de L1 jusqu'à L4, pour une durée de 24 heures seulement (Fig.21).

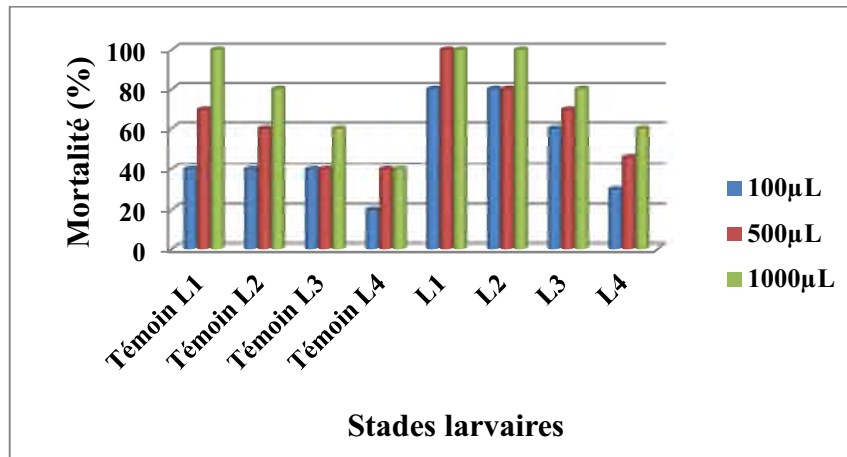


Figure 21 : Effet de l'hydrolat de *T.articulata* sur les différents stades larvaires

Nous remarquons un ordre décroissant du taux de mortalité pour les larves traitées et témoins du L1 à L4. Il est supérieur pour les larves traitées à celui des larves témoins pour les concentrations de 100µL, 500 et 1000µL.

3.1.2. Estimation de la toxicité des traitements

L'évaluation de l'effet toxique des traitements biologiques est estimée par la comparaison des populations larvaires résiduelles (PR) selon le test de Dunnett.

3.1.2.1. Huile essentielle et hydrolat de *Thymus capitatus*

La figure 22 présente la variabilité des populations larvaires résiduelles de *T. absoluta* après application des différentes doses de l'huile essentielle.

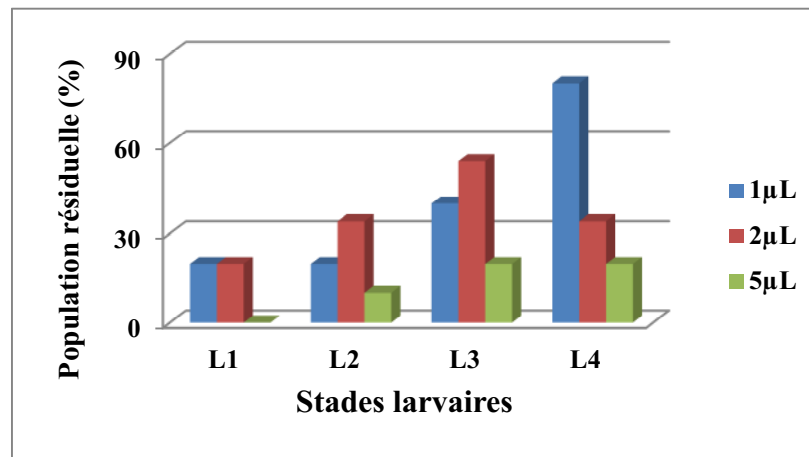


Figure 22 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par *Thymus capitatus*

Nous remarquons dans la figure précédente que l'huile essentielle de *T. capitatus* semble toxique à la concentration de 5µL puisque les pourcentages des populations larvaires résiduelles sont inférieurs à 30% pour les quatre stades larvaires. Elle devient ensuite moyennement toxique pour les stades L2, L3 et L4 à une concentration de 2µL.

A la concentration de 1µL, nous remarquons une toxicité pour les populations L1 et L2, une toxicité moyenne pour les populations L3 puisque les pourcentages des populations larvaires résiduelles se situent entre 30 et 60% et une toxicité faible pour les populations L4 puisque leur pourcentage dépasse 60%.

Les résultats de l'Anova (**Tab 4 ; ANNEXES**) appliquée sur les différentes doses de *Thymus capitatus* contre les stades larvaires montrent une probabilité de 0.005 ($p < 5\%$), ce qui confirme qu'il existe une différence significative entre les doses de la même plante.

La différence est significative entre les stades larvaires avec une probabilité de 0.03 inférieur à 5% (**ANNEXES**).

La **figure 23** montre la variabilité de la population larvaire résiduelle de *T. absoluta* après traitement par différentes doses de l'hydrolat de *Thymus capitatus*.

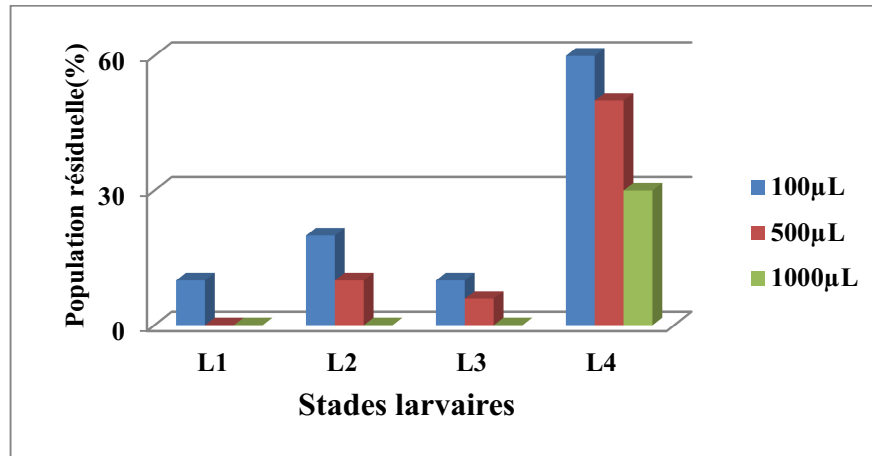


Figure 23 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par l’hydrolat de *Thymus capitatus*

Les pourcentages des populations larvaires résiduelles sont inférieurs à 30% pour les trois doses utilisées sur L1, L2 et L3, ce qui s’explique par la toxicité des molécules bioactives de l’hydrolat de *Thymus capitatus*. En revanche, les mêmes molécules bioactives des différentes doses semblent avoir une toxicité moyenne pour L4 puisque les pourcentages des populations larvaires résiduelles se situent entre 30 et 60%.

3.1.3.2. Huile essentielle et hydrolat de *Tetraclinis articulata*

La figure 24 présente les variabilités des populations larvaires résiduelles de *T.absoluta* après application de l’huile essentielle de *Tetraclinis articulata* à différentes concentrations.

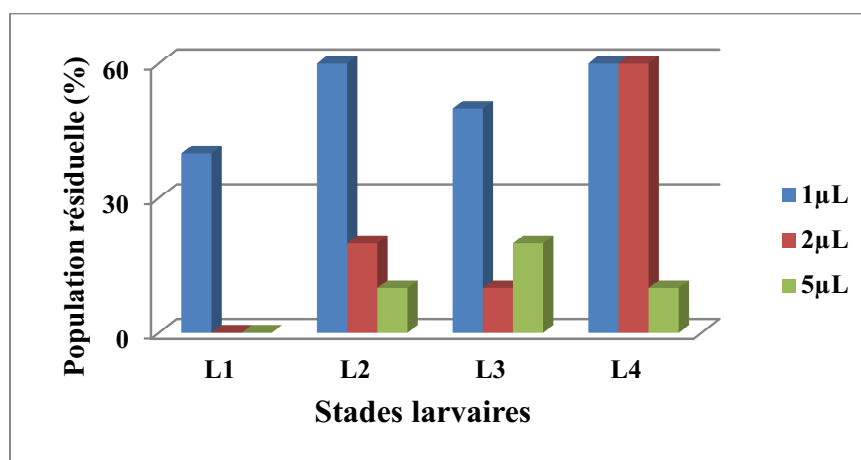


Figure 24 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par l’hydrolat de *Tetraclinis articulata*

Les molécules des substances bioactives des deux concentrations 2 μ L et 5 μ L semblent très toxiques pour les populations résiduelles L1, L2, L3 et L4 puisque les pourcentages sont inférieurs à 30% excepté pour la concentration de 2 μ L qui présente une toxicité moyenne sur L4.

En revanche, la molécule bioactive de 1 μ L est moyennement toxique pour toutes les populations larvaires résiduelles. Ce qui explique les pourcentages variant entre 30 et 60%.

En considérant l'interaction doses-stades larvaires dans le tableau 4 (ANNEXES), nous remarquons une probabilité de 0.004 (inférieure à 5%), ce qui explique qu'il existe une différence significative entre les doses de *Tetraclinis articulata* vis-à-vis des différents stades larvaires.

Nous remarquons qu'il existe aussi une différence significative entre les stades larvaires de *T. absoluta* puisque la probabilité est de 0.009 (Tab.4 ; ANNEXES).

La figure 25 suivante présente l'application de l'hydrolat de *T. articulata* sur les populations larvaires à différentes doses utilisées.

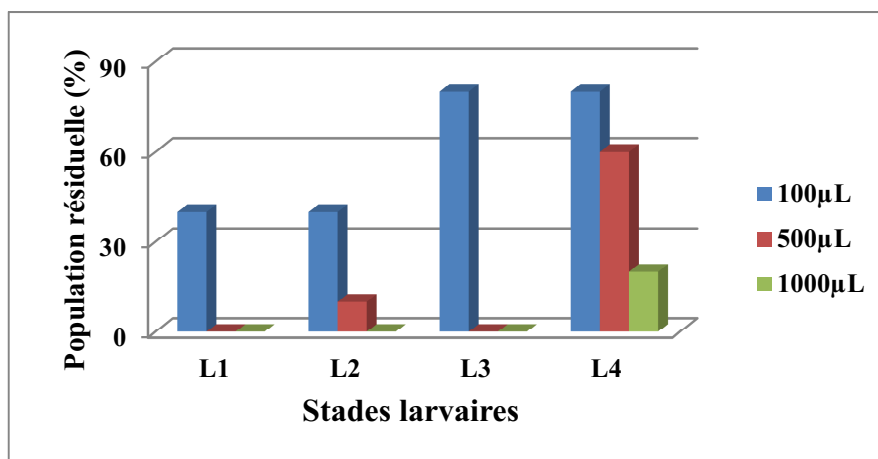


Figure 25 : Variabilité des populations larvaires résiduelles par l'hydrolat de *Tetraclinis articulata*

L'hydrolat de *T. articulata* à une concentration de 100 μ L présente un effet moyennement toxique pour les populations L1, L2 et un effet faiblement toxique pour les populations L3 et L4 avec des pourcentages entre 30 et 60% et supérieurs à 60% respectivement.

Les deux concentrations 500 et 1000 μ L semblent plus toxiques sur les populations larvaires résiduelles L1, L2, L3 et L4 puisque les pourcentages sont inférieurs à 30% excepté pour la concentration 500 μ L qui présente un effet moyennement toxique par rapport à la population L4.

3.1.3.3. Comparaison entre la toxicité de deux huiles essentielles et les hydrolats sur les populations larvaires résiduelles

Dans cette étude, le principe des tests de la toxicité est le même avec une comparaison entre *Thymus capitatus* et *Tetraclinis articulata* sur les populations larvaires résiduelles de *Tuta absoluta* (Fig. 26).

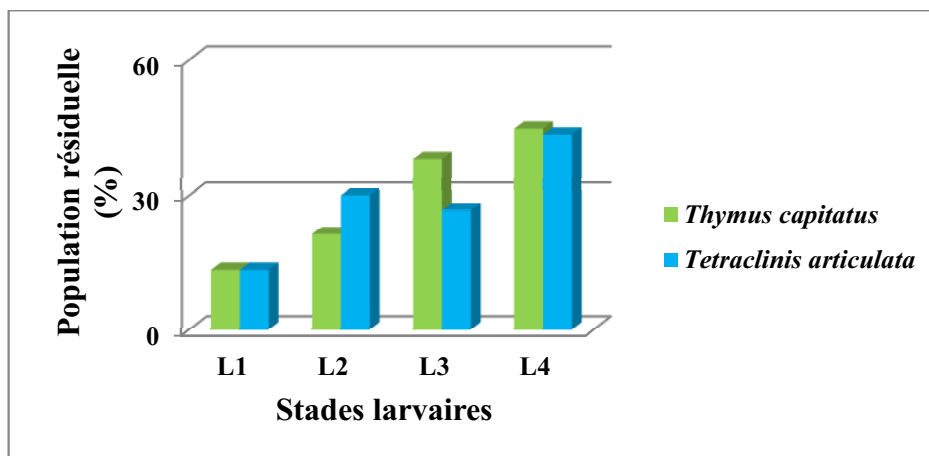


Figure 26 : Comparaison des toxicités de *T.capitatus* et *T.articulata* sur les populations larvaires résiduelles

Nous remarquons dans la figure 26 précédente qu'il n'y a pas de différence de toxicité entre les deux huiles essentielles puisqu'elles possèdent des effets similaires sur les populations larvaires résiduelles L1, L2 et L3. Ainsi, les deux huiles ont un effet moyennement toxique sur L4, le pourcentage se situant entre 30 et 60%.

D'après l'analyse de variance à un facteur (ANNEXES), nous remarquons qu'il n'y a pas de différence significative entre l'effet de *Thymus capitatus* et celui de *Tetraclinis articulata* puisque la probabilité est supérieure à 5% ($p=0.99$).

La figure suivante montre la comparaison entre les hydrolats de *T. capitatus* et *T. articulata* sur les populations larvaires résiduelles.

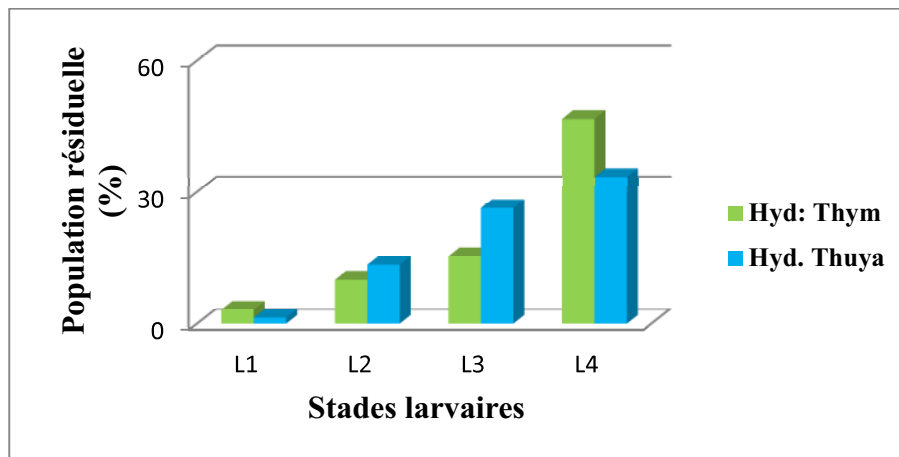


Figure 27 : Comparaison de la toxicité des hydrolats de *T.capitatus* et *T.articulata* sur les populations larvaires résiduelles

La figure 27 montre qu'il n'y a pas une différence de l'effet de toxicité entre les hydrolats des deux huiles essentielles sur les populations larvaires résiduelles puisque les pourcentages sont similaires. Les hydrolats sont toxiques pour les populations L1, L2, L3 et moyennement toxiques pour L4.

L'hydrolat de *Thymus capitatus* est légèrement plus toxique que celui de *T. articulata*.

3.2. Activité antifongique « in vitro » des huiles essentielles

Les données présentées dans le **tableau 8** montrent les activités antifongiques des trois espèces de plantes étudiées *T. capitatus*, *T. articulata* et *D. crinitus*, appartenant à trois familles botaniques (Lamiaceae, Apiaceae et Cupressaceae) respectivement, contre le développement de champignons isolés de nos tomates : *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, et *Trichoderma sp.*

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de *T. capitatus*, *T.articulata* et *D.crinitus* est étudié vis-à-vis sept champignons causant la pourriture des tomates, que nous avons isolées et prélevées de notre champ d'étude (**Tableau 8**). L'huile essentielle de *T. capitatus* est plus active que celle de *T. articulata* et *D. crinitus*, elle a provoqué une inhibition totale de la croissance de tous les champignons à partir de 2 µg/ml. La deuxième huile essentielle la plus

efficace avec les sept champignons est celle de *T. articulata*, avec des pourcentages de réduction des mycéliums de *F. oxysporum* (36.11%), *A. niger* (11.11%), *Penicillium* sp1 (34.56%), *Penicillium* sp2. (45.12%), *Botrytis cinerea* (61%), *Alternaria solani* (35.12%), *Trichoderma* sp. (59 %) pour la même concentration (**Tableau 8**).

Cependant, les données indiquent que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne croît avec l'augmentation de la concentration d'huiles essentielles pour toutes les souches testées, suggérant que l'huile essentielle de *T. articulata* a inhibé la croissance de toutes les souches d'une manière dose dépendante.

L'huile essentielle de *D. crinitus* provoque la réduction des mycéliums de *F. oxysporum*, *Penicillium* sp2 et *Alternaria solani* alors qu'elle n'a pas d'effet sur les autres souches. Cette activité antifongique est plus prononcée pour *Penicillium* sp2, avec un pourcentage d'inhibition de 54,32 % à 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$, atteignant un maximum de 100 % à 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Pour *F. oxysporum*, le pourcentage d'inhibition est de 48.41 % à 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$, pour atteindre un maximum de 83.33 % à 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (**Tableau 8**).

Alors que pour *Alternaria solani* le pourcentage d'inhibition est de 31.21 % à 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$, pour atteindre un maximum de 74.28 % à 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (**Tableau. 8**).

Cette efficacité antifongique des H.E. des différentes plantes étudiées s'explique par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des sept champignons phytopathogènes. Cette activité peut être réalisée par un composé majeur unique ou par l'effet synergique ou antagoniste de divers composés (**Deba et al., 2008**).

Tableau 8 : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne à différents volumes d'huiles essentielles.

Incubation	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternariasolani</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichodermasp</i>	<i>Aspergillus niger</i>
	25°C ± 2	25°C ± 2	25°C ± 2	25°C ± 2	25°C ± 2	25°C ± 2	25°C ± 2
H.E.2µg/ml							
<i>T. capitatus</i>	Frais 100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00
<i>T. capitatus</i>	Sec 100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00
<i>T.articulata</i>	36,11±0,08	35,12±0,01	61± 12.25	34,06±0,02	45,12±0,06	59± 8.36	11,11±0,11
<i>D.crinitus</i>	48,41± 1.36	31,21± 1.25	12,26± 2.36	3,22± 0.86	54,32±0,21	4,11± 0.32	00 ± 00
H.E.5µg/ml							
<i>T. capitatus</i>	Frais 100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00
<i>T. capitatus</i>	Sec 100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00
<i>T.articulata</i>	72,22 ±0,06	70 ±0,02	73,33± 1.36	64,44±0,12	84,44±0,08	78,88± 0.56	37,77± 2.36
<i>D.crinitus</i>	75,55± 0.12	55,55± 1.36	26,66± 0.08	5,55±0,21	77,77±0,06	7,77± 0.01	5,8± 0.13
H.E.10µg/ml							
<i>T. capitatus</i>	Frais 100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00
<i>T. capitatus</i>	Sec 100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00	100±0,00
<i>T.articulata</i>	83,33± 0.03	86,66± 0.96	80± 0.36	71,11± 0.78	88,88± 2.36	87,77± 1.36	57,77±0,11
<i>D.crinitus</i>	83,33± 2.36	74,28± 3.3	47,77± 0.56	66,66± 0.08	85,55± 1.23	27,77± 0.06	11,11± 0.08

3.3. Activité antifongique « in vitro » des extraits de plantes

Le pouvoir antifongique des extraits de solvants des trois plantes contre le développement des mycéliums de la tomate est étudié vis-à-vis des sept champignons isolés causant la pourriture des tomates.

3.3.1. *Thymus capitatus*

L'évaluation des effets des extraits du *Thymus capitatus* sur la croissance des mycéliums des moisissures (**Tableaux 9**) montre que l'extrait hexanique possède le meilleur effet antifongique et inhibe totalement la croissance de toutes les espèces de moisissures testées d'une manière dose dépendante. À la concentration de 500 μ L, il réduit la croissance mycélienne de *F. oxysporum*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*, *Trichoderma sp.* et *Botrytis cinerea* de 100 %.

En revanche, à la concentration de 500 μ L, pour l'extrait chloroformique, le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *F. oxysporum*, *Alternaria solani*, *A. niger*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*, *Trichoderma* et *Botrytis cinerea* est de 100% ; 88.57% ; 86.66% ; 90% ; 100 %; 100 %, 100% respectivement.

À la même concentration, l'extrait éthanolique inhibe la croissance mycélienne de *F. oxysporum* (78.00%), *Alternaria solani* (72,11%), *A. niger* (66,33%), *Penicillium sp1*(62,11%), *Penicillium sp2* (100%), *Trichoderma sp.* (100%) et *Botrytis cinerea* (100%).

Nous remarquons à la concentration de 250 μ L, l'extrait éther de pétrole a inhibé la croissance mycélienne de toutes les moisissures à plus de 80% à l'exception d'*A. niger*.

Concernant l'interaction moisissure-extrait, on remarque que l'extrait hexanique est le plus actif vis-à-vis des sept souches, suivi des extraits chloroformique, éthanolique et éther de pétrole.

Tableau 9 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) des différentes souches en fonction du temps et de la concentration des extraits de *Thymus capitatus*

Ethanol : (50mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
100µL	54,55	47,12	19	48	57	71,11	68
250µL	66,75	60	42,22	55,55	84	91,14	86,11
500µL	78	72,11	66,33	62,11	100	100	100
Extrait chloroformique : (50mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
100µL	35.55	42.85	11.11	5.55	62.22	61,11	72,22
250µL	78.88	78.57	33.33	33.33	77.77	90	100
500µL	100	88.57	86.66	90	100	100	100
Extrait hexanique : (50mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
100µL	90	87.14	33.33	90	98.88	100	100
500µL	100	100	100	100	100	100	100
Extrait éther de pétrole :(371mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
100µL	55.55	57.14	11,11	33.33	83.33	71,11	42,22
250µL	91.11	87.14	11.11	90	100	87,77	90

3.3.2. *Tetraclinis articulata*

Le tableau 10 présente les pourcentages d'inhibition des différents dosages des extraits éthanolique, chloroformique, hexanique et de l'éther de pétrole contre les sept souches de moisissures.

Tableau 10 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) des différentes souches en fonction du temps et de la concentration des extraits de *Tetraclinis articulata*

Extrait éthanolique : (250 mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
25µL	33.33	52.85	28.75	22,22	64,44	50	45
50µL	55.55	60	36.66	66	70	67,66	58
100µL	60	81.42	57.77	82.22	84,44	84,44	70,22
250µL	90	87.14	73.33	90	100	100	93
Extrait chloroformique : (100 mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
25µL	8.88	40	28.88	36.66	67.77	28,88	25
50µL	36.66	47.14	22,22	45.55	74.44	42,66	44,11
100µL	67.77	71.42	34.44	67.77	82.22	72,22	73,33
200µL	100	75.71	45	78,21	90,66	87,11	91,11
Extrait hexanique : (100mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
100µL	37.77	58.57	17.77	83.33	84.44	86,66	83,33
200µL	90	84.28	70	73.33	100	90	100
500µL	100	100	84.44	82.22	100	100	100
Extrait éther de pétrole : (250mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
25µL	11.11	61.42	0	27.77	76.66	70	66,33
50µL	44.44	72.85	33.33	24.44	81.11	83,33	72,11
100µL	66.66	78.57	50	62.22	85.55	91,11	84,44
200µL	85.55	81.42	100	100	90	100	100

Les résultats du tableau 10 montrent clairement que tous les extraits ont un effet sur les différentes souches étudiées puisqu'elles sont inhibées presque totalement à une concentration de 200µL.

A une concentration de 100µL de chaque extrait, nous remarquons un pourcentage d'inhibition supérieur à 50% pour les différentes souches étudiées sauf *A.niger* qui présente un pourcentage d'inhibition faible vis-à-vis des deux extraits hexanique et chloroformique. *F.oxysporum* présente aussi un pourcentage d'inhibition inférieur à 50% pour l'extrait hexanique. Le classement des extraits en fonction de leur activité antifongique serait : éther de pétrole, éthanolique, hexanique et enfin chloroformique (Tableaux 10).

3.3.3. *Daucus crinitus*

Pour la plante *Daucus crinitus*, nous avons réalisé des tests à partir de trois extraits de la partie aérienne et des racines. L'hexane est remplacé par l'extrait aqueux.

Tableau 11 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%) des différentes souches en fonction du temps et de la concentration des extraits

Ethanol : (30mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
D.R 500µL	88.88	84.28	5.55	87.77	91.11	86,66	76,66
D.F 500µL	84.44	81.42	76.66	86.66	100	86,66	71,11
Chloroforme : (100 mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
D.R 100µL	83.33	80	61.11	80	85.55	82,22	76,66
D.F 100µL	77.77	77.77	17.77	74.44	87.77	80	65,55
Extrait Aqueux : (30 mg/ml)							
Pourcentage d'inhibition (%)							
Champignons	<i>F.oxysporum</i>	<i>A.solani</i>	<i>A. niger</i> (%)	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Trichoderma sp.</i>	<i>B.cinerea</i>
D.R 500µL	84.44	81.42	55.55	84.44	100	90	76,66
D.F 500µL	84.44	87.14	76.66	83.33	81.11	90	73,33

Pour les trois extraits, les résultats (**Tableaux 11**) montrent un pourcentage d'inhibition très élevé voire une inhibition totale pour certaines souches étudiées, à une concentration de 100 et 500 μ L respectivement. Seul *A. niger* présente un pourcentage très faible pour les deux extraits éthanolique et chloroformique.

Nous remarquons qu'il n'y a pas une différence entre les effets des extraits de la partie aérienne et les extraits des racines vis-à-vis des souches étudiées. Sauf pour *A. niger* qui présente une grande différence entre les extraits de la même espèce.

3.4. Activité antifongique « in vivo » des hydrolats de *T. capitatus* et *T. articulata*

Les résultats in vivo du traitement de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium sp1*, *Penicillium sp1*, *Trichoderma sp* et *Aspergillus niger* responsables de la pourriture des tomates, par les hydrolats sont présentés dans le **tableau 12**.

La quantité de l'hydrolat de *D. crinitus* étant insuffisante, nous ne l'avons pas utilisée pour les tests in vivo contre les moisissures.

Selon les résultats, les hydrolats de *T. articulata* et de *T. capitatus* ont montré une très bonne activité antifongique.

L'hydrolat de *T. articulata* est plus actif sur les souches de *F.oxysporum*, *A. solani* et *Penicillium sp2*. Au bout de 15 jours, il a provoqué une inhibition de la croissance de 55% sur *F.oxysporum* et *A. solani* et 70 % pour le *Penicillium sp2* à la concentration de 0.4 μ g/ml. En revanche, l'hydrolat de *T. capitatus* a exercé une remarquable activité inhibitrice sur trois agents pathogènes : *Trichoderma sp.*, *F.oxysporum* et *Penicillium sp1* qui lui sont les plus sensibles. L'hydrolat de *T. capitatus* a inhibé la croissance mycélienne de 80%, 60 et 70% respectivement, à partir de la concentration de 0.2 μ g/ml ; contrairement au contrôle pour lequel nous avons observé une pourriture totale des tomates.

Dans la présente étude, la réduction de la croissance des mycéliums en présence des hydrolats de *T. capitatus* et *T. articulata* ont montré qu'ils contrôlent efficacement les souches de *F.oxysporum*, *A. solani* et *Penicilliumsp1* et *Penicillium sp2*. Cette efficacité peut être expliquée par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes. En effet, le pouvoir antifongique des hydrolats des deux plantes peut être attribué à leurs compositions chimiques ; en effet, le thym est constitué principalement par le carvacrol qui est un terpène phénolique.

Tableau 12 : Pourcentages de diffusion des champignons sur la tomate

Champignons	Tests		
	Thym(%)	Thuya(%)	Contrôle(%)
<i>Fusarium oxysporum</i>	1 ^{ère} semaine		
	5	15	20
	2 ^{ème} semaine		
	40	45	100
<i>Alternaria solani</i>	1 ^{ère} semaine		
	20	15	50
	2 ^{ème} semaine		
	60	45	100
<i>Botrytis cinerea</i>	1 ^{ère} semaine		
	15	50	2
	2 ^{ème} semaine		
	70	100	60
<i>Penicillium sp1</i>	1 ^{ère} semaine		
	1	15	10
	2 ^{ème} semaine		
	30	100	100
<i>Trichoderma sp</i>	1 ^{ère} semaine		
	0	25	1
	2 ^{ème} semaine		
	20	100	60
<i>Aspergillus niger</i>	1 ^{ère} semaine		
	15	20	40
	2 ^{ème} semaine		
	50	50	80
<i>Penicillium sp2</i>	1 ^{ère} semaine		
	40	15	50
	2 ^{ème} semaine		
	70	30	100

3.5. Activité antimicrobienne « in vitro »

3.5.1. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles *Thymus capitatus*, *Tetraclinis articulata* et *Daucus crinitus* est évaluée par la méthode des puits. Les observations effectuées sur les effets des huiles essentielles sur la croissance des souches bactériennes testées, isolées de nos tomates prélevées au niveau de notre champ d'étude, *Acinetobacter*, *Flavobacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Erwinia sp.*, sont représentées dans les tableaux et les figures suivants, réalisés par les deux méthodes de diffusion sur gélose de disque et de puits.

3.5.1.1. Essai avec H.E de *Thymus capitatus* par la méthode de diffusion en puits

Nous avons réalisé les tests sur les différentes bactéries et à différentes concentrations par la méthode des puits. Pour cela, nous avons testé les deux huiles de *Thymus capitatus* sec et frais. La **photo 12** représente les cinq bactéries témoins traitées par la méthode des puits.



Photo 12 : Témoins réalisés par la méthode des puits

2.5.1.1.1. Huile essentielle de *Thymus capitatus* séché

Les résultats ci-dessus concernant l'activité antimicrobienne « in vitro » montrent clairement que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles testées varie en fonction de la bactérie cible (**Photo 13**).

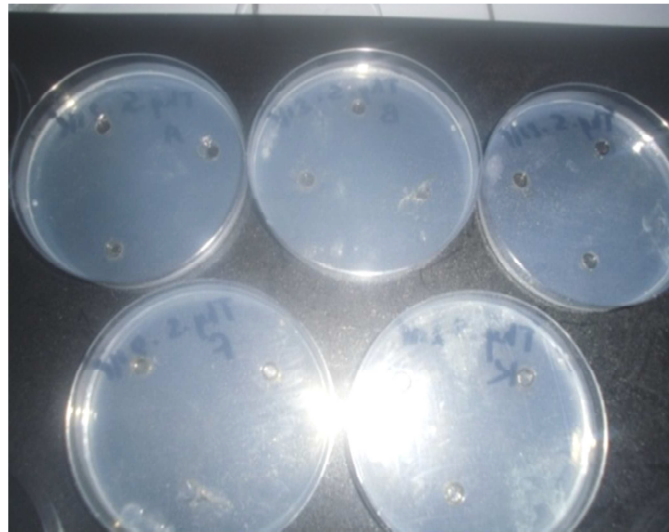


Photo 13 : Effet de H.E de *Thymus capitatus* séché (5 μ L) contre cinq bactéries (Diamètre d'inhibition obtenu par la méthode de puits)

D'après le **tableau 13** ci-dessous, l'huile essentielle du thym séché donne une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées. A la concentration de 1 μ L, l'huile montre une zone d'inhibition variant de 27.6 à 39.6 mm de diamètre et présente un large spectre d'activité antimicrobienne contre les cinq bactéries isolées, à Gram positif et Gram négatif.

A 2 μ L, l'huile de *T. capitatus* donne une plus grande zone d'inhibition sur les bactéries *Acinetobacter sp*, *Flavobacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Erwinia sp* avec des diamètres d'inhibitions de 90 mm chacun et expose aussi un spectre d'activité antimicrobienne important contre deux bactéries sur cinq. Cependant à la concentration de 5 μ L, nous remarquons une inhibition totale (90 mm) pour toutes les souches bactériennes (**Tab. 13**).

Tableau 13 : Diamètres d'inhibitions (mm) (moyenne ±écart-type) provoqués par l'huile essentielle de *Thymus capitatus* séché (5 ; 2 et 1µL)

	<i>Acinetobactersp</i>	<i>Flavobacteriu m sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Erwinia sp.</i>
DD (5µL)	90 ±0.0	90 ± 0.0	90 ± 0.0	90 ± 0.0	90 ± 0.0
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (2µL)	90±0.0	61,6±12.58	65±8.66	90±0.0	44.6±12.85
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (1µL)	31±6.55	35.6±3.51	39.6±5.03	37.33±2.51	27.6±9.29
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

3.5.1.1.2. Huile essentielle de *Thymus capitatus* frais

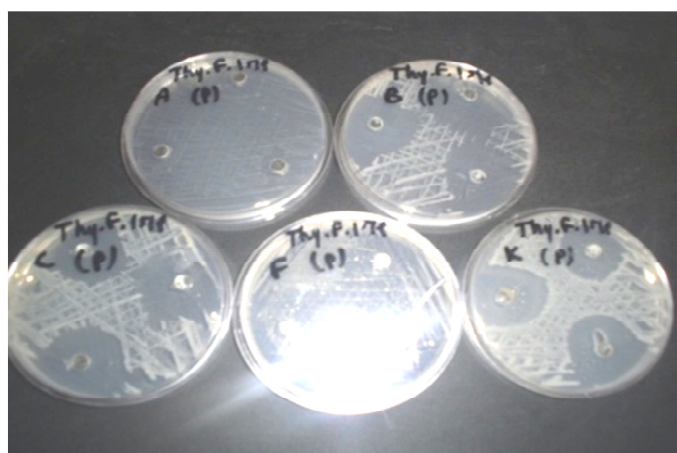


Photo 14 : Effet de H.E de *Thymus capitatus* frais (1µL) contre cinq bactéries (Ø= Halo d'inhibition obtenu par la méthode de puits)

Les résultats du tableau 14 obtenus à l'aide de la méthode de diffusion en puits montrent qu'il y a une très bonne activité antimicrobienne vis-à-vis des cinq souches bactériennes. En utilisant la méthode de diffusion sur gélose, l'huile essentielle de *Thymus capitatus* frais est active contre *Acinetobacter sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Erwinia sp.* (Tableau 14). Les zones d'inhibition varient entre 17.66 à 40.6 mm pour une concentration de 1µL. Alors que pour une concentration de 2 µL, l'activité antimicrobienne présente une très bonne activité avec des zones d'inhibition entre 39.3 et 62.6 mm. A la concentration de 5 µL, nous avons eu une inhibition totale avec des zones d'inhibition de 90 mm.

Tableau 14 : Diamètres d'inhibitions en (mm) (moyenne ±écart-type) provoqués par l'huile essentielle de *Thymus capitatus* frais (5 ; 2 et 1µL)

	<i>Acinetobacter</i> sp	<i>Flavobacterium</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Erwinia</i> sp.
DD (5µL)	90 ±0.0	90 ± 0.0	90 ± 0.0	90 ± 0.0	90 ± 0.0
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (2µL)	40 ± 11.13	46 ± 6.0	62.6 ± 24.41	44.3 ± 2.08	39.3 ± 9.01
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (1µL)	17.66 ± 1.52	33 ± 2.64	27.3 ± 2.51	40.6 ± 11.33	30.6 ± 3.05
Sensibilité	Très sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

3.5.1.2. Essai avec l'huile essentielle de *Thymus capitatus* par la méthode de diffusion sur disques de gélose

Les tests de l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles de *Thymus capitatus* sec et frais de *Thymus capitatus* sur les cinq bactéries sont réalisés par la méthode des disques.

3.5.1.2.1. HE de *Thymus capitatus* sec

Nous remarquons que l'activité antimicrobienne de l'huile de *Thymus capitatus* sec pour les cinq bactéries agit différemment (**Photo 15**).

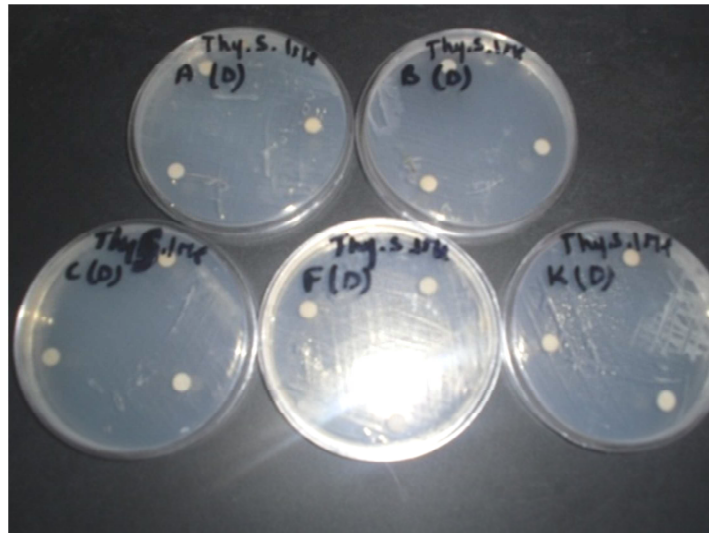


Photo 15 : Effet de H.E de *Thymus capitatus* sec (1 μ L) contre cinq bactéries (\emptyset = zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion sur gélose).

Les résultats de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur gélose sont presque les mêmes que ceux de la diffusion des puits puisque les bactéries sont totalement inhibées à une concentration de 5 μ L alors que pour une concentration de 2 μ L, les souches *Acinetobacter sp.*, *Flavobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Erwinia sp.* ont respectivement des zones d'inhibitions de 90, 51.3, 67.6, 90 et 58.6 mm. Cependant les cinq bactéries sont aussi extrêmement sensibles à une concentration de 1 μ L avec des zones d'inhibition variant de 23.3 à 48.3 mm.

Tableau 15 : zones d'inhibition* en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoquées par l'huile essentielle de *Thymus capitatus* séché (5 ; 2 et 1 μ L)

	<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Erwinia sp.</i>
DD (5μL)	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (2μL)	90 \pm 0.0	51.3 \pm 3.51	67.6 \pm 11.23	90 \pm 0.0	58.6 \pm 12.34
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (1μL)	23.3 \pm 4.16	36.3 \pm 2.08	38.6 \pm 2.30	48.3 \pm 7.63	39.6 \pm 17.61
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

3.5.1.2.1. HE de *Thymus capitatus* frais

La photo suivante présente l'action de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* frais sur les différentes bactéries étudiées.



Photo 16 : Effet de H.E de *Thymus capitatus* frais (1 μ L) contre cinq bactéries (\emptyset = Halo d'inhibition obtenu par la méthode de diffusion sur gélose)

Tableau 16 : Diamètres d'inhibitions en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqués par l'huile essentielle de *Thymus capitatus* frais (5 ; 2 et 1 μ L)

	<i>Acinetobacter</i> sp.	<i>Flavobacterium</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Erwinia</i> sp.
DD(5μL)	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD(2μL)	39 \pm 3.60	43.3 \pm 4.16	67 \pm 7.00	62 \pm 5.03	43 \pm 6.55
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD(1μL)	19 \pm 3.60	45 \pm 17.78	41 \pm 9.01	31.6 \pm 7.63	44 \pm 7.76
Sensibilité	Très sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

Nous remarquons d'après les résultats du tableau 16 que l'huile essentielle de *Thymus capitatus* à une concentration de 5 μ L montre une inhibition très forte de la croissance bactérienne avec des zones d'inhibition de 90mm. Cependant, à la concentration de 1 μ L, la plus faible activité est observée sur la souche *Acinetobacter* sp. avec une zone d'inhibition de 19 mm, alors que les autres souches présentent des zones d'inhibition variant de 31.6 à 67 mm.

3.5.1.3. Essai avec l'H.E de *Tetraclinis articulata* par la méthode de diffusion en puits

La photo 17 suivante présente les zones d'inhibition bien distinctes pour les différentes souches bactériennes à une concentration de 5 μ L.



Photo 17 : Effet de H.E de *Tetraclinis articulata* contre cinq bactéries (Ø = zone d'inhibition obtenue par la méthode de puits)

Tableau 17 : Diamètres d'inhibition en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqués par l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (2, 5 et 10 μ l)

	<i>Acinetobactersp</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Erwinia sp.</i>
DD(10μL)	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0	90 \pm 0.0
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD(5μL)	15 \pm 5	22 \pm 2	24.6 \pm 7.57	30.3 \pm 7.37	26.6 \pm 3.21
Sensibilité	Très sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD(2μL)	9 \pm 1	14 \pm 4.50	12 \pm 2	11.3 \pm 3.21	9.3 \pm 0.57
Sensibilité	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

Les résultats de l'activité antimicrobienne obtenus à l'aide de la méthode des puits montrent que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* montre une activité antimicrobienne très élevée à une concentration de 10 μ L, puisqu'il y a une inhibition totale sur les cinq souches bactériennes (90 mm). L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a modérément réduit la croissance des 5 souches à la concentration de 5 μ L avec des zones d'inhibitions variant de 15 à 26.6 mm. En revanche, elle a faiblement réduit la croissance des cinq bactéries à une

concentration de 2µL avec des zones d'inhibitions faibles de 9, 14, 12, 11.3 et 9.3 mm respectivement.

3.5.1.4. Essai avec l'H.E de *Tetraclinis articulata* par la méthode de diffusion sur disques de gélose

Les tests effectués sur les différentes souches bactériennes par l'H.E de *Tetraclinis articulata* avec la méthode de diffusion des disques de gélose ont donné les résultats suivants :

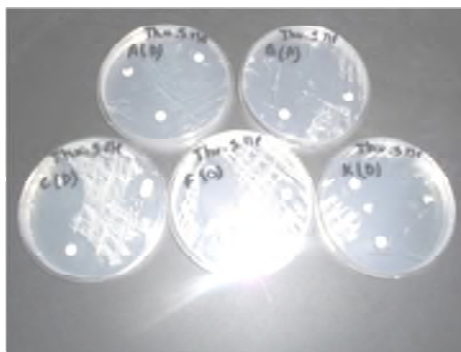


Photo 18 : Effet de H.E de *Tetraclinis articulata* contre cinq bactéries (Ø = zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion sur gélose)

Tableau 18 : Diamètres d'inhibition en (mm) (moyenne ±écart-type) provoqués par l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (2 ; 5 et 10µl)

	<i>Acinetobactersp</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Erwinia sp.</i>
DD (10µL)	90±0.0	90±0.0	90±0.0	90±0.0	90±0.0
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (5µL)	26±3.60	43.3±21.38	39.3±13.65	25±8.71	40±13
Sensibilité	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (2µL)	10±7.93	13.3±6.80	13±3.60	13±3.05	11.6±3.21
Sensibilité	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

Les résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques (**Tableau 18**) sont similaires à ceux de la méthode de diffusion en puits puisque les bactéries sont totalement inhibées (90 mm) à la concentration de 10 μ L; modérément impactées à une concentration de 5 μ L avec des zones d'inhibition variant de 25 à 43.3 mm et faiblement inhibées à une concentration de 2 μ L avec des zones d'inhibition variant de 10 à 13.3 mm.

3.5.1.5. Essai avec l'H.E de *Daucus crinitus* par la méthode de puits

Dans cette partie, les tests de l'activité antibactérienne sont réalisés uniquement avec l'huile essentielle des racines de *Daucus crinitus*, les résultats obtenus sont observés sur la **photo 19**.

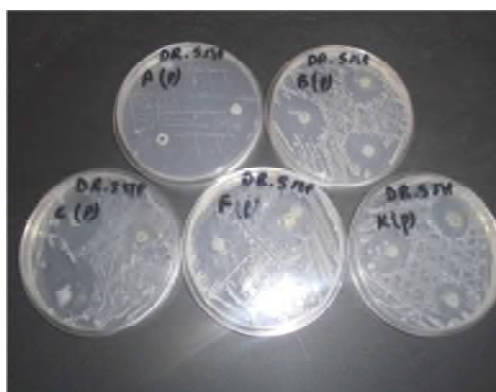


Photo 19 : Effet de l'H.E de *Daucus crinitus* (5 μ L) contre cinq bactéries (\emptyset = zones d'inhibition obtenues par la méthode de puits)

Tableau 19 : Diamètres d'inhibition en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqués par l'huile essentielle de *Daucus crinitus* (2, 5 μ L)

	<i>Acinetobactersp</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Erwinia sp.</i>
DD (5μL)	15.3 \pm 4.61	23.6 \pm 3.51	24.3 \pm 6.02	27.3 \pm 4.93	23.6 \pm 3.51
Sensibilité	Très sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible
DD (2μL)	28 \pm 17.57	15 \pm 3.60	16.6 \pm 5.13	18.3 \pm 2.08	13.6 \pm 1.52
Sensibilité	Extrêmement sensible	Très sensible	Très sensible	Très sensible	Sensible

L'huile essentielle des racines de *Daucus crinitus* montre un degré de sensibilité différent pour les bactéries vis-à-vis des deux concentrations. La souche bactérienne *Acinetobacter sp.* est très sensible à une concentration de 5 μ L avec une zone d'inhibition de 15.3 mm ; elle devient extrêmement sensible à une concentration de 2 μ L avec une zone d'inhibition de 28 mm. Pour une concentration de 2 μ L, les bactéries *Flavobacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* et *Erwinia sp.* se présentent comme très sensibles et deviennent extrêmement sensibles à la concentration de 5 μ L avec des zones d'inhibition variant de 23.6 à 27.3 mm.

3.5.1.6. Test avec l'H.E des racines de *Daucus crinitus* par la méthode des disques

Les mêmes tests de l'action de l'huile essentielle de *Daucus crinitus* sont effectués sur les cinq souches bactériennes par la méthode de diffusion des disques (**Photo 20**).

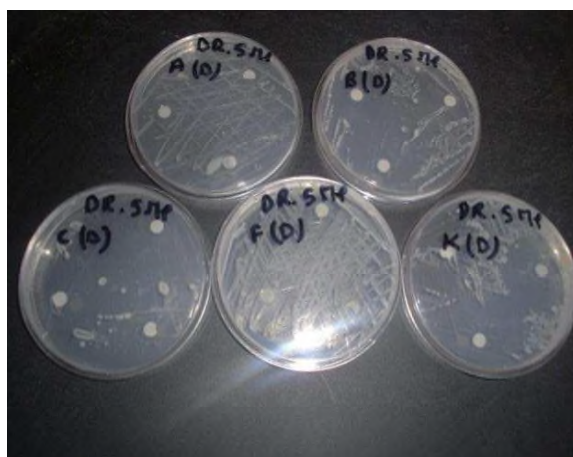


Photo 20 : Effet de H.E de *Daucus crinitus* (5 μ L) contre cinq bactéries (\emptyset = zones d'inhibition obtenues par la méthode de diffusion de puits)

Les résultats du **tableau 20** montrent que les souches bactériennes *Flavobacterium sp.*, *Bacillus sp.* et *Erwinia sp.* présentent une activité antimicrobienne très élevée à une concentration de 5 μ L avec des zones d'inhibition respectivement de 30.3, 26 et 36 mm. Ensuite, vient la souche *Pseudomonas sp.* avec une activité antimicrobienne moyenne avec une zone d'inhibition de 19.6 mm et enfin la souche *Acinetobacter sp.* qui présente l'activité la plus faible avec un diamètre d'inhibition de 11.3 mm.

A une concentration de 2 μ L, les deux souches *Flavobacterium sp.* et *Bacillus sp.* se présentent comme sensibles, alors que les deux autres souches *Acinetobacter sp.* et *Erwinia sp.* comme très sensibles et *Pseudomonas sp.* comme étant sensible.

Tableau 20 : Diamètre d'inhibition* en (mm) (moyenne \pm écart-type) provoqué par l'huile essentielle de *Docus crinitus* (2 et 5 μ l)

	<i>Acinetobacter sp.</i>	<i>Flavobacterium sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Erwinia sp.</i>
DD (5μL)	11.3 \pm 1.52	30.3 \pm 3.51	26 \pm 9.16	19.6 \pm 4.50	36 \pm 4
Sensibilité	Sensible	Extrêmement sensible	Extrêmement sensible	Très sensible	Extrêmement sensible
DD (2μL)	15 \pm 5.29	11.3 \pm 1.52	14 \pm 4.58	21.3 \pm 7.37	15.6 \pm 1.52
Sensibilité	Très sensible	Sensible	Sensible	Extrêmement sensible	Très sensible

*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les diamètres de la zone d'inhibition.

3.5.2. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les résultats des CMI des différentes huiles essentielles étudiées sont représentés dans le tableau 21 et la photo 21.

Tableau 21 : Les activités antibactériennes des huiles essentielles de *T. capitatus* sèche et fraîche, *D. crinitus* et *T. articulata* à l'aide de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Souches bactériennes	CMIs ($\mu\text{L}/\text{mL}$)			
	HE. <i>T. capitatus</i> (sèche)	HE. <i>T. capitatus</i> (fraîche)	HE. racines <i>D. crinitus</i>	HE. <i>T. articulata</i>
<i>Acinetobacter</i> sp.	0.07	0.15	0.01	0.03
<i>Flavobacterium</i> sp.	0.07	0.03	0.15	0.03
<i>Bacillus</i> sp.	0.03	0.03	0.03	0.03
<i>Pseudomonas</i> sp.	0.03	0.03	0.07	0.07
<i>Erwinia</i> sp.	0.07	0.15	0.03	0.07

Les valeurs des CIMs des huiles essentielles contre les souches microbiennes étudiées sont présentées dans le **tableau 21**. Ces résultats montrent que l'huile essentielle des trois plantes présente des propriétés antibactériennes potentielles. Les valeurs de la CMI contre les microorganismes testés varient de 0.01 à 0.15 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

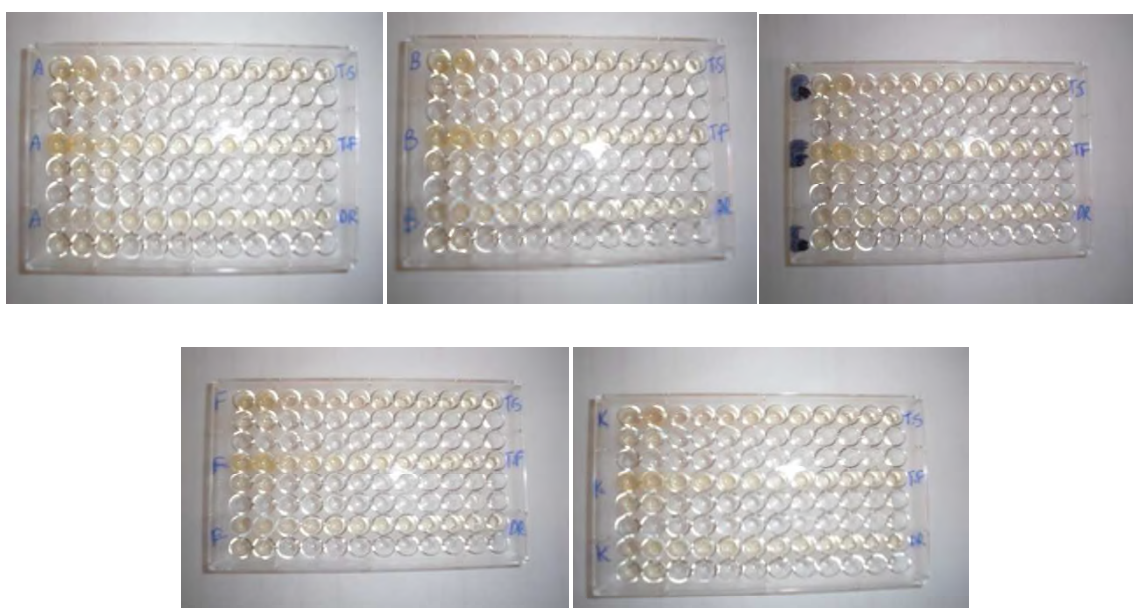


Photo 21: CMIs des H.E. testées contre cinq bactéries par microplaques

L'action inhibitrice la plus importante de l'huile essentielle des racines de *D. crinitus* est observée contre les souches *Acinetobacter* sp. et *Erwinia* sp. avec respectivement des CMIs de 0.01 et 0.03 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Cependant, les huiles essentielles de *T. capitatus* et *T. articulata* ont

présenté une activité très intéressante sur toutes les souches, avec des valeurs de CMI variant de 0.03 à 0.15 $\mu\text{L}/\text{mL}$. L'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces peut être essentiellement associée à leurs principaux constituants, tels que la carvacrol, les sesquiterpènes hydrocarbonatés et les phénylpropanoïdes. En fait, ces composés se sont précédemment montrés actifs contre de nombreux organismes et sont connus comme présentant une bonne activité antibactérienne.

CONCLUSION

L'ensemble des résultats obtenus quant aux activités biologiques des huiles essentielles des trois plantes étudiées nous confirment leurs pouvoirs insecticides, fongicides et bactéricides, ce qui nous incite à les conseiller vivement à nos agriculteurs à les utiliser comme des alternatives aux pesticides jusque-là utilisés avec toutes les conséquences nocives tant pour la santé que pour l'environnement !

DISCUSSION

Le travail effectué porte sur la bioécologie du ravageur de la tomate *Tuta absoluta* dans notre région et les différents moyens « naturels » pour lutter contre ce phytophage et la microflore pathogène qui l'accompagne. A cet effet, nous avons utilisé trois plantes aromatiques dont nous avons extrait les huiles essentielles et analysé leurs compositions chimiques, nous avons également testé leurs extraits et hydrolats pour en connaître les activités biologiques (insecticide, antifongique et antibactérienne).

Dans cette partie nous synthétisons et discutons les principaux résultats obtenus.

Concernant la bioécologie de l'insecte, à la température de $30\pm 1^{\circ}\text{C}$, nous enregistrons la durée la plus courte du développement de *Tuta absoluta* de 16 jours. Par contre, la durée la plus longue est de 28 jours à une température ambiante de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$. Une durée de 21 jours est obtenue à une température de 27°C . Ces résultats corroborent parfaitement ceux de **Mahdi et al. (2011)**.

Ghellamallah (2008) a signalé que la durée du cycle est de 18 à 29 jours pour une température qui varie entre 22°C et 31°C ; dans des conditions analogues de températures, **Barrientos et al. (1998)** ont enregistré un cycle de 23 jours. **Razuri et Vergas (1975)** rapportent que la durée du cycle de développement de *T. absoluta* varie entre 26 et 34 jours pour une température ambiante de 24°C et de 35.5 jours pour une température variant de 15 à 21°C .

Plusieurs auteurs ont trouvé des durées de développement qui varient de 26 à 38 jours (**Pereira, 2005. Molla et al., 2008 ; Silva, 2008**). Cette variation trouve sa justification dans l'effet des facteurs climatiques dont principalement la température ; en effet, cette dernière joue un grand rôle dans la durée du cycle biologique.

Le développement nymphal dure 11.9 jours à 27°C en moyenne pour nos élevages, ce qui est supérieur à ceux obtenues par **Pirres (2008) et Desneux et al. (2010)** pour lesquels la durée nymphale est de 9.2 jours. Elle est de 8 jours pour **Torres et al. (2001) et Silva (2008)**.

Barrientos et al. (1998) et Bacci(2006) signalent une phase de chrysalide qui s'accomplit en 6,5 jours à 27°C.

La longévité des stades adultes est un paramètre important à prendre en considération dans l'étude du cycle biologique. Les adultes femelles présentent une longévité de 8 à 16 jours, avec une moyenne de 12.6 ; et de 6 à 13 jours pour les adultes mâles avec une moyenne de 8.9 jours.

Ester et al. (2001) citent une longévité de 10 à 15 jours, donc une période plus longue par rapport à nos résultats, notamment les mâles, avec une durée de 10 à 15 pour les femelles et 6 à 7 pour les mâles.

Par contre, il existe d'autres travaux qui indiquent une période plus longue entre 10 à 22 jours pour les femelles et de 10 jours pour les mâles (**Souza et Reis, 2000 ; Torres et al., 2001 ; Ghelamallah, 2008**). **Mahdi et al., 2011** donne une longévité de 22 à 26 pour les femelles et 12 à 18 pour les mâles.

Pour ce qui est des extraits et huiles essentielles des plantes aromatiques étudiées, les rendements moyens obtenus de l'extraction par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire sont de l'ordre de 2% pour *T. capitatus*, ce qui est inférieur à celui de **Belyagoubi (2006)** avec 2.30%. Un rendement de 0.23% pour *T. articulata* qui corrobore parfaitement celui obtenu par **Bourkhiss et al. (2007 a)** avec 0.22%, et nettement moins important que celui de **Bourkhiss et al.(2007b)** avec un rendement de 0.41% dans la région de Khemiss et au Maroc et 1.63% dans la même région(**Bourkhiss et al., 2010**); il est relativement élevé par rapport à certaines plantes exploitées industriellement comme source d'huiles essentielles (**Claus et al., 1987**).

Le rendement moyen de *D. crinitus* est de 0.37, ce qui est inférieur à celui de **Lanfranchi et al. (2010)**. En général, ces résultats sont proches de la littérature où la différence est probablement due à la période de prélèvement et aux facteurs climatiques et géologiques.

En général, la qualité et la quantité de composants présents dans les huiles essentielles peuvent être affectées par plusieurs facteurs tels que le géotype de la plante, la situation géographique, la saison et l'état agronomique (**Gumus et al., 2010**).

Un total de 26 éléments représentant 99,3% de la composition de l'huile essentielle de *T. capitatus* est identifié. L'huile essentielle est particulièrement dominée par des composés

oxygénés (74,5%) avec une quantité élevée de composants aromatiques terpéniques (82,6%). Toutefois, les monoterpènes hydrocarbonés sont apparus aussi en proportion appréciable (23.1 %).

En effet, les principaux constituants de l'huile essentielle sont le carvacrol (69,4%), le p-cymène (12,4%), suivis par le γ -terpinène (4,3%), le myrcène (2,1%), le α -terpinène (1,7%), le linalol (1,7%) et le terpinène-4-ol (1,1%). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature (**Ruberto et al., 2000 ; Bounatirou et al., 2007; Amarti et al., 2008 ; Tawaha et Hudaib, 2012**). D'autre part, les différents profils chimiques des huiles essentielles (thymol, carvacrol ou thymol/carvacrol comme composants principaux) sont différents selon les origines géographiques de *T. capitatus* (**Karouso et al., 2005; Miceli et al., 2006**).

L'analyse de l'huile essentielle des parties aériennes de *D. crinitus* récolté dans la forêt de Bensekrane (Tlemcen) a identifié 30 éléments, qui représentent 91,8% de la composition totale. Ces principaux composants sont les phénylpropanoïdes, principalement l'isobutyrateisochavicol (44,9%). Les autres composants majeurs identifiés sont: isochavicol 2 méthylbutyrate (9,7%), pentadécane (5,1%) et undécane (4,1%). Ces résultats sont en accord avec les données de **Lanfranchi et al. (2010)**.

Un total de 54 éléments représentant 95,9% de l'huile totale de *T. articulata* est identifié. Les huiles essentielles sont fortement dominées par les monoterpènes hydrocarbonés (63,8%), suivis par les sesquiterpènes oxygénés (14,7%) et les sesquiterpènes hydrocarbonés (10,5%). Toutefois, les monoterpènes oxygénés sont apparus en faible proportion (6,4%). Les composés les plus abondants sont le α -pinène (32,0%), le cédrol (11,0%), le 3-carène (9,6%), le limonène (4,3%), le sabinène (4,3%) et le (E)- β -caryophyllène (4,0%).

Ben Jemia et al.(2013) ont isolé et identifié, par CPG/SM, 66 composés ; les principaux constituants sont: l'acétate de bornyle (31,4%), le α -pinène (24,5%) et le camphre (20,3%). Tandis que **Toumi et al. (2011)** ont identifié, par CPG/SM, plus de 45 composés, le camphre (23,4-31,6%), l'acétate de bornyle (17,1-25,8%), le bornéol (6,6-14,3%), le limonène (3,70-10,1%) et le α -pinène (6,5-11,3%) sont les principaux composants de l'huile essentielle de *T. articulata*.

Il est signalé que les principaux constituants pour les huiles provenant de deux sites différents en Algérie sont : le α -pinène (19,8 à 24,9%) et de l'acétate de bornyle (de 40,2 à 59,2%)

(Chikhounne et al., 2013). En outre, les pourcentages de cédrol et du 3-carène trouvés dans l'huile essentielle sont plus élevés que le cédrol et le 3-carène dans les études précédentes.

Trente-trois composés sont identifiés par Bourkhiss et al. (2007), représentant plus de 80% de la composition chimique totale de cette huile. L' α -pinène (30,22 %) et le limonène (22,29 %) y sont majoritaires. La présence de composés à un degré moindre est relevée : le widdrol (5,41 %), l'acétate de bornyle (4,76 %) et l'humulène (3,49). Les autres composés sont présents en faibles quantités.

Bourkhiss et al. (2010), ont identifié vingt-deux composés représentant plus de 83% de la composition chimique totale. Les constituants majoritaires sont : l' α -acorénol (20,9%), le cédrol (17,9%), le totarol (8,8%), d' α -cédrene (8,7%) et le β -acorénol (7,4%). Cette composition est largement dominée par les sesquiterpènes oxygénés (47,8%) suivis des sesquiterpènes hydrocarbonés (24,3%) et des diterpènes oxygénés (9,4%). On note également la présence en faible proportion de diterpènes hydrocarbonés (1,9%), de monoterpènes oxygénés (0,8%) et l'absence totale de monoterpènes hydrocarbonés.

La composition chimique de l'huile essentielle des rameaux du Thuya de Berbérie (*T. articulata*) pourrait dépendre de facteurs écologiques et environnementaux et de facteurs génétiques, comme le stipulent d'autres travaux sur les Cupressacées (Angioni et al., 2003). Les rendements des feuilles, de l'écorce et du bois de *T. articulata* peuvent différer. (Barrero et al., 2005) indiquent que les feuilles et le bois de *Tetraclinis articulata* ont un profil différent, avec des concentrations très différentes, pour le camphre par exemple. L'huile de Thuya de Berbérie pourrait constituer une nouvelle source de widdrol, alcool sesquiterpénique rencontré chez les Cupressacées (Touayli, 2002).

Les variations rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles, du point de vue qualitatif et quantitatif, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et à la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (Senatore, 1996 ; Kokkini et al., 1997 ; Russo et al., 1998 ; Thompson et al., 2003 ; Karousou et al., 2005).

L'extraction des composés actifs des plantes aromatiques et médicinales dépend du type de solvant et de la méthode d'extraction utilisée (Parekh et al., 2005 ; Majhenic et al., 2007). Les rendements obtenus à partir des extraits des trois plantes montrent des variations importantes entre les espèces. Ces résultats suggèrent que *T. articulata* est riche en composés

peu polaires qui a des affinités avec l'hexane et le chloroforme, respectivement avec des rendements de 12.58 et 4.94 %.

Cependant, *T. capitatus* et *D. crinitus* semblent riches en composés polaires ayant une forte affinité pour l'éthanol et l'eau, avec des rendements en extractibles de l'ordre de 13,17 % et 6.63 % pour l'extrait éthanolique et 8.56 et 5.22 % pour l'extrait aqueux. Ces résultats sont plus importants que ceux trouvés par **Quaralleh (2009)**. D'autres auteurs (**Karaman et al., 2003 ; Moniharapon et Hashinaga, 2004**) signalent que les résultats de l'extrait aqueux sont non comparables aux autres solvants comme le méthanol et l'éthanol.

L'étude des activités biologiques des extraits, hydrolats et huiles essentielles des trois plantes étudiées ont donné des résultats que nous comparons à ceux qui sont cités dans la littérature.

Les huiles essentielles de *T. capitatus* et *T. articulata* ainsi que leurs hydrolats sont testés sur les quatre stades larvaires (L1, L2, L3 et L4) et sur les nymphes de *T. absoluta*. L'ensemble des résultats obtenus dans nos conditions expérimentales montre que les deux huiles essentielles ont une nette action larvicide sur les quatre stades larvaires.

Après traitement par les huiles, nous notons des taux de mortalité très élevés pouvant varier de 60 à 100% en fonction de l'H.E utilisée, de sa concentration et du temps. Même à des concentrations plutôt faibles (2 μ L, 1 μ L), elles sont encore efficaces et les différences avec le témoin sont significatives. Cela s'explique par une très bonne activité inhibitrice qui empêche au moins 60% des larves et des nymphes de poursuivre leur développement. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Aiboud (2012)** qui a trouvé une forte activité insecticide sur les œufs et les larves de coléoptères Bruchidae par six huiles essentielles.

En Algérie, **Allal-Benfekih et al. (2011)**, ont aussi trouvé une bonne activité larvicide des extraits d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Urtica urens* contre les stades endophytes de *Tuta absoluta* (Ravageur invasif de la tomate).

Au Maroc, **Ait Taadaouit et al. (2011)** ont mentionné une bonne activité larvicide contre les larves de *T. absoluta* par *Thymus vulgaris* et une activité moins importante par les extraits méthanoliques et éthanoliques.

Regnault-Roger et Philogène (2008) ont révélé que certains alcools, phénols, cétones, aldéhydes et terpènes produits en permanence par des plantes aromatiques et qui peuvent être présents dans une même plante, vont agir sur le comportement d'un grand nombre d'insectes

phytophages par des processus de répulsion ou d'anti appétence. Leur toxicité s'exerce de façon sélective sur le système nerveux (neurotoxique), le système reproducteur (reprotoxique) ou le système digestif des bioagresseurs.

Zarins et al. (2009) font remarquer que ces phyto-préparations peuvent être considérées comme phyto-insecticides de contact, alors que les mines engendrées sur le feuillage par les larves protègent les larves des insecticides de contact. Les effets toxiques et répulsifs de ces extraits aqueux pourraient dépendre de leur composition chimique et du niveau de sensibilité des larves. Le caractère répulsif de ces extraits contre les larves pourrait également être dû à une forte teneur de constituants majoritaires, à des métabolites minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants.

D'autres auteurs comme : **Ansari et al. (2000)** ; **Redwane et al.(2002)** ; **Vahitha et al.(2002)** ; **Scott et al. (2003)** ; **Cetin et al. (2004)** ; **Park et al. (2005)** ; **Tchoumboungang et al. (2007)** et **Tchoumboungang et al. (2009)** ont tous trouvé une bonne activité insecticide des huiles aromatiques sur les moustiques (*Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* et *Ocheratatos togoi*).

Fardeau et Jonis (2003) et **Messaoud et al. (2011)** ont utilisées infusions d'ortie qui sont particulièrement efficaces sur l'Aleurode, notamment sur la variété qui sévit sur le chou rouge. Les extraits de la sauge présentent un aspect particulièrement nocif sur la vitellogénèse de *S. gregaria*. (**Taail et Doumandji-Mitiche, 2006** ; **Mouhouche et Bezzaze, 2007**). La sauge est particulièrement riche en flavonoïdes et phytoestrogènes, qui lui confèrent ses principales propriétés. Elle est également riche en thuyone, en diterpènes et triterpènes, salvènes, flavonoïdes, et tanins (**Sassella et al., 2008** ; **Bisio, 2010**).

Contre les champignons, les phénols terpéniques des huiles essentielles provoquent plusieurs dégâts tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries (**De Billerbeck et al., 2001** ; **Arras et al., 2001**).

Concernant la microflore pathogène des tomates prélevées de notre site d'étude, nous avons identifié sept souches de champignons isolés de nos tomates : *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1*, *Penicilliumsp2*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani*, et *Trichoderma sp.* qui ont servi à tester les activités biologiques des composés des trois plantes étudiées.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de *T. capitatus*, *T. articulata* et *D. crinitus* est étudié vis-à-vis des sept champignons isolés et identifiés, causant la pourriture des tomates. L'huile essentielle de *T. capitatus* est plus active que celles de *T. articulata* et *D. crinitus*, elle a provoqué une inhibition totale de la croissance de tous les champignons à partir de 2 µg/ml.

L'importante bioactivité de l'huile essentielle de *T. capitatus* est en relation avec sa teneur élevée en carvacrol (69 %). En effet, plusieurs auteurs (**Sivropoulou et al., 1996; Trombetta et al., 2002 ; Satrani et al., 2008**) ont montré que les huiles essentielles riches en dérivés phénoliques (carvacrol et thymol) possèdent une forte activité antifongique et microbienne.

Des études réalisées par l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 1999**) ont également montré que ces constituants possèdent une forte activité antifongique et antibactérienne contre de nombreuses espèces, y compris *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *S. aureus* et *E. coli*.

Une récente étude a permis aussi de prouver l'efficacité des essences du thym *T. capitatus* contre les mêmes champignons *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* (**Amarti et al., 2008**). La flore algérienne peut donc constituer une réserve importante d'espèces végétales intéressantes, dont les principes actifs peuvent être employés dans plusieurs domaines tels que les industries agroalimentaire et pharmaceutique.

Plusieurs auteurs ont attribué la capacité antifongique des huiles essentielles des plantes à la présence de composants tels que les composés phénoliques et les terpéniques (**Beuchat, 1994; Nychas, 1995; Davidson, 1997**), ils ont indiqué que l'inhibition de la croissance des mycéliums est provoquée par les monoterpènes présents dans les huiles essentielles. Ces composants pourraient augmenter la concentration de peroxydes lipidiques tels que des groupements hydroxyle, alkoxy et Alko radicaux peroxyde et ainsi de provoquer la mort cellulaire.

Lambert et al., 2001; Marino et al., 2001; Abou-Jawdah et al., 2002; Bouchra et al., 2003; Daferera et al., 2003; Zambonelli et al., 2004; Soylu et al., 2006; Bajpai et al., 2007; Martínez-Romeroa et al., 2007; Soylu et al., 2007; Hadian et al., 2008; Kordali et al., 2008; Ozcan et Chalchat, 2008) ont signalé une inhibition du mycélium des champignons par plusieurs plantes aromatiques et médicinales.

L'extrait flavonoïque et l'huile essentielle de la plante *Inule viscosa* montre une activité antifongique contre les dermatophytes et *Candida* spp et différentes moisissures, **(Benhammou et Atik Bekkara, 2005)**.

D'autres auteurs ont prouvé une capacité antifongique in vitro sur *Botrytis cinerea* qui attaque la tomate **(Letessier et al., 2001; Soylu et al., 2005; Oxenham et al., 2005; Soylu et al., 2006 ; 2007)**.

Ainsi, **(Bianchi et al., 1997; Fiori et al, 2000; Romagnoli et al., 2005; Soylu et al., 2006; Soylu et al., 2007)** ont remarqué que l'huile essentielle de certaines plantes aromatiques cause une altération morphologique dans les hyphes des moisissures. **Tripathi et al. (2009)** ont trouvé que ces hyphes sont surtout endommagés chez *Fusarium oxysporum*.

La deuxième huile essentielle la plus efficace avec ces sept champignons est l'huile essentielle de *T. articulata*, avec des pourcentage de réduction du mycélium de *F. oxysporum* (36.11%), *A. niger* (11.11%), *Penicillium* sp1(34.56%), *Penicillium* sp2(45.12%), *Botrytis cinerea* (35.12%), *Alternaria*, *Trichoderma* sp (59 %) respectivement, pour une même concentration.

Ces résultats sont parfaitement en accord avec ceux de **Bourkhiss et al. (2007 et 2010)** contre les souches fongiques *Penicillium parasiticus* et *Aspergillus niger* qui sont inhibées à 1/2000 alors que *Trametes pini* n'est inhibé qu'à partir de 1/1000 (v/v).

Le pouvoir fongicide élevé de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl) est dû essentiellement à sa composition chimique très riche en alcools terpéniques. Plusieurs auteurs **(Cox et al., 2001 ; Hammer et al., 2003 ; Inouye et al., 2001)** ont travaillé sur l'activité antifongique et antibactérienne des composés majoritaires des huiles essentielles qu'ils ont classé dans l'ordre décroissant suivant:

phénols>alcools>aldéhydes>cétones> éthers>hydrocarbures. Par ailleurs, ces mêmes auteurs ont rapporté que les alcools possèdent une activité fongicide plutôt que bactéricide.

Les principaux composants de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Daucus crinitus* sont les phénylpropanoïdes, principalement l'isobutyrateisochavicol (44,9%). Les autres composants majeurs identifiés sont: isochavicol 2 méthylbutyrate (9,7%), pentadécane (5,1%) et undécane (4,1%). Ces résultats corroborent parfaitement ceux indiqués par **(Bendi, 2014)** où l'activité antifongique de cette huile est faible.

Concernant l'interaction moisissure/extrait de *Thymus capitatus* vis-à-vis des sept souches isolées, nous remarquons que l'extrait hexanique est le plus actif, suivi des extraits chloroformique et éthanolique. Ces résultats sont similaires à ceux des travaux effectués par **Sharif et al. (2010)** sur *F. oxysporum*, *Botrytis* et d'autres souches pathogènes.

Le classement des extraits en fonction de leurs activités antifongiques serait : éther de pétrole, éthanolique, hexanique et enfin chloroformique pour *T. articulata* ; et aqueux, éthanolique, enfin chloroformique pour *D. crinitus*. Dans ce contexte, nous n'avons pas trouvé des études appropriées aux extraits de ces deux plantes pour pouvoir comparer.

Plusieurs études sont reportés sur l'activité antifongique in vivo des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales (**Isman, 2000 ; Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004 ; Rasooli et al., 2006 ; Soylu et al., 2006 ; Kordali et al., 2008 ; Uldahl, 2009 ; Zhao et al., 2011 ; Marei et al., 2012**). Par contre, il y a peu de travaux sur l'activité des hydrolats des plantes aromatiques, notamment sur les moisissures de tomate.

Dans la présente étude, les réductions de la croissance du mycélium de colonies en présence des hydrolats de *T. capitatus* et *T. articulata* ont montré que ces produits contrôlent efficacement les souches de *F.oxysporum*, *A. solani* et *Penicillium sp1* et *sp2*. Cette efficacité peut être expliquée par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes. Le pouvoir antifongique des hydrolats des deux plantes peut être attribué à leurs compositions chimiques ; en effet, le thym est constitué principalement par le carvacrol qui est un terpène phénolique. Et le thuya est riche en sesquiterpènes oxygénés et sesquiterpènes hydrocarbonés.

« In vivo », dans une étude menée par **Muller-Riebau et al. (1995)**, le carvacrol a montré une activité antifongique remarquable par inhibition de la croissance du mycélium de *Fusarium sp.* **Bouddine et al. (2012)** révèlent que la croissance d'*Aspergillus niger* est complètement inhibée par le carvacrol à des concentrations de 0,025%. En outre, cette étude confirme l'activité antifongique de ce composé contre la croissance du mycélium de *P. italicum* in vitro et in vivo.

Burt, 2004 ; Lopez et al., 2005-2007 ; Secvic-Klaric et al., 2006 ; Bluma et al., 2009 et Tzortzakis, 2009) ont observé une forte inhibition d'*A.niger*, *P. notatum*, *Salmonella enterica* et *Listeria monocytogenes* par l'hydrolat des plantes avec une concentration de 0.5%.

En ce qui concerne l'activité bactéricide des différentes H.E. des plantes étudiées, l'huile essentielle du thym séché a montré une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées qu'elles soient Gram positif ou Gram négatif. Les résultats obtenus à l'aide de la méthode de diffusion en puits pour *T. capitatus* frais montrent aussi une très bonne activité antimicrobienne. A la concentration de 5 µL, nous avons eu une inhibition totale avec des zones d'inhibition de 90 mm.

Plusieurs études rapportent que *T. capitatus* possède une activité antimicrobienne importante (Alves et al., 2000; Al-Tarawneh, 2004; Bounatirou et al., 2007; Ndukwe et al., 2007; Ebrahimi et al., 2008 ; Nwaogu et al., 2008).

Amarti et al. (2010) rapportent que l'huile de *Thymus ciliatus* exerce une forte activité antibactérienne. La concentration de 1/2 000 v/v est suffisante pour inhiber la croissance d'*Escherichia coli* et de *Micrococcus luteus*. Alors que *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sont plus sensibles avec une concentration d'inhibition de 1/3 000 v/v. Les mêmes résultats sont obtenus pour l'huile essentielle de *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link du Maroc [carvacrol (70,92 %), p-cymène (6,34 %), γ-terpinène (4,92 %)], sauf pour *S. aureus* qui est inhibée à partir de 1/2 000 v/v (Amarti et al., 2008).

Dorman et al. (2000) ont testé l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. contre quatre bactéries (*E. coli* ; *M. luteus*. ; *B. subtilis* et *S. aureus*), ils ont trouvé une sensibilité plus importante de *B. subtilis* et d'*E. coli*.

Loziene et al. (2007) ont montré que *S. aureus* et *M. luteus* sont plus sensibles qu'*E. coli*. à l'huile essentielle de *Thymus pulegioides* L. Par ailleurs, l'huile essentielle de *Thymus revolutus* celak. étudiée par Karaman et al. en 2001 avec sa composition chimique particulière [carvacrol (43,13 %), γ-terpinène (20,86 %), p-cymène (13,94 %)] s'est montrée très active contre ces souches bactériennes.

À l'égard de l'essence de *Thymus algeriensis*, *B. subtilis* s'est montrée plus résistante avec une concentration d'inhibition de 1/250 v/v, alors que les autres bactéries sont inhibées à partir de 1/500 v/v.

L'huile essentielle de *T. algeriensis* est moins active, comparée à l'essence de *T. ciliatus*. Cette faible activité peut être due à la présence dans l'huile de *T. algeriensis* de l'α-pinène (20,5 %), du β-pinène (8,02 %) et du limonène (4,85 %) reconnus pour leur faible activité antibactérienne (Knobloch et al., 1989 ; Chalchat et al., 2000). La même constatation est rapportée par Giordani et al. (2008) qui ont montré que parmi les huiles de sept plantes aromatiques et médicinales différentes de l'Algérie, l'essence de *Thymus algeriensis* a

présenté la plus faible activité antifongique contre *Candida albicans*. L'importante bioactivité de l'huile essentielle de *Thymus. Ciliatus* est en relation avec sa teneur élevée en thymol (44,2 %). En effet, plusieurs auteurs (**Pellecuer et al., 1980 ; Gergis et al., 1990 ; Panizzi et al., 1993 ; Sivropoulou et al., 1996 ; Trombetta et al., 2002 et 2005 ; Satrani et al., 2008**) ont indiqué que les huiles essentielles riches en dérivés phénoliques (carvacrol et thymol) possèdent une forte activité antimicrobienne.

Dorman et al. (2000) ont démontré que le thymol est le composé qui possède le plus large spectre d'activité antibactérienne contre 25 genres de bactéries testées.

Les résultats de l'activité antibactérienne de *T. articulata* par la méthode de diffusion des disques sont similaires à ceux de la méthode de diffusion en puits puisque les bactéries sont totalement inhibées (90 mm) à la concentration de 10 μ L.

L'huile essentielle des racines de *Daucus crinitus* montre un degré de sensibilité différent vis-à-vis des bactéries pour les deux concentrations.

Les résultats de **Bourkhiss et al. (2007)** montrent que seules les deux bactéries *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* sont inhibées à des concentrations élevées 1/250 et 1/100 (v/v). La faible activité antimicrobienne de cette huile essentielle peut s'expliquer par son profil chimique pauvre en composés connus pour leur pouvoir antimicrobien comme certains alcools monoterpéniques (**Koba et al., 2004**) ainsi que les phénols (**Franchomme, 1981**) et riche en hydrocarbures terpéniques (61 % environ), notamment l' α -pinène et le limonène. Ce dernier, en particulier, ne présente aucun effet bactériostatique ou fongistatique (**Scora et Scora, 1998**).

Les microorganismes étudiés n'ont pas manifesté la même sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* dans l'étude de **Bourkhiss et al. (2010)**. Chez les bactéries, *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus* sont inhibés à partir de la plus faible concentration utilisée (1/1000), par contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont manifesté une certaine résistance jusqu'à 1/5000 (v/v). Pour les souches fongiques, *Penicillium parasiticus* et *Aspergillus niger* sont inhibés à 1/2000 alors que *Trametes pini* n'est inhibé qu'à partir de 1/1000 (v/v).

Les pouvoirs bactéricide et fongicide élevé de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl) sont dus essentiellement à sa composition chimique très riche en alcools terpéniques. Les bactéries sont plus vulnérables à l'huile essentielle que les champignons. Ce résultat est à rapprocher du fait que les terpénols sont abondants par rapport aux hydrocarbures terpéniques.

En effet, il a été signalé que les terpénols sont plus efficaces contre les bactéries que contre les champignons (**Knobloch et al., 1989**). Le totarol (phénol diterpénique) en particulier, est connu par son efficacité antibactérienne très élevée (**Kubo et al., 1992 ; Becerra et al., 2002 ; Jaiswal et al., 2007 ; Smith et al., 2007** ainsi que **Sato et al., 2008**).

D'autres travaux ont été réalisés sur les huiles essentielles ainsi que leurs extraits contre des bactéries. Les résultats montrent que la bactérie Gram négative est plus résistante que la bactérie Gram positive. En effet, *Klebsiella oxytoca* est inhibée à partir de la concentration 2,5% (V/V), *Lactobacillus plantarum* est inhibée à partir de 0,075% (V/V) (**Delaquis et al., 2002 ; Pintore et al., 2002 ; Kunle et al., 2003 ; Sahin et al., 2004**). L'évaluation de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *J. phoenicea* permet d'affirmer qu'elle a un pouvoir inhibiteur vis à vis de tous les microorganismes testés indépendamment de leur gram et de leur morphologie, signalons que la bactérie à gram positif est plus sensible que la bactérie à gram négatif (**Bouzouita et al., 2008**).

L'ensemble de ces résultats, discuté et comparé à d'autres travaux nous permet de préconiser l'utilisation des H.E. et hydrolats des trois plantes étudiées contre *Tuta absoluta* et tous les germes pathogènes qui lui sont associés pour protéger les cultures de tomates puisque, même à des doses très faibles, ces substances naturelles sont efficaces en tant que biopesticides.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

La culture de la tomate a une grande importance dans l'économie algérienne. Depuis 2008, cette culture est attaquée par *Tuta absoluta* (un microlépidoptère de 6 à 7 mm)) dont la larve provoque d'importants dégâts sur les feuilles, les tiges et les fruits particulièrement sur la tomate.

L'objectif de ce travail est de proposer d'autres alternatives à l'utilisation des pesticides conventionnels et par conséquent, limiter les effets néfastes de ces derniers sur l'environnement et la santé humaine, afin d'encourager et valoriser la production des cultures biologiques en Algérie.

La lutte biologique attire l'attention des chercheurs à l'heure actuelle, surtout par l'utilisation de substances naturelles d'origine végétale comme insecticides.

L'étude de l'activité insecticide, antifongique et antibactérienne de l'huile essentielle et des hydrolats de trois plantes aromatiques *Thymus capitatus*, *Daucus crinitus* et *Tetraclinis articulata* permet de déterminer les effets de chacun sur la mineuse de la tomate, cultivée en plein champs et de la microflore pathogène qui lui est associée, afin de sécuriser au mieux la production, en réduisant les dégâts tout en limitant l'utilisation des pesticides.

Pour cela, une bonne connaissance sur la bio-écologie et le développement de *Tuta absoluta* est indispensable car l'étude du cycle biologique en fonction de la température fait ressortir une durée moyenne des stades de développement de 16 jours à 30±1°C, de 21 jours à 27°C et de 28 jours à 24±1°C.

La longévité des adultes varie de 8 à 16 jours pour les femelles et de 6 à 13 pour les mâles. Nous notons clairement l'effet de la température sur la longévité des adultes.

D'autre part, nous avons enregistré un taux de mortalité larvaire de 10% ; une mortalité nymphale de 20% ; une pupaison qui dure 10,41 jours et un sex- ratio de 1,69.

CONCLUSION GENERALE

Le taux de mortalité atteint les 80% à une concentration de 5 μ L, allant jusqu'à 100% de mortalité pour les larves L1 que ce soit par l'effet *T. capitatus* ou *T. articulata*.

Le pourcentage de mortalité des larves traitées est supérieur à celui des larves témoins pour les différents stades larvaires, ce qui explique que l'hydrolat de *T. capitatus* et l'hydrolat de *T. articulata* possèdent une bonne activité insecticide.

Les résultats de l'Anova appliquée sur les différentes doses de *Thymus capitatus* et *T. articulata* sur les stades larvaires montrent une probabilité inférieure à 5%, ce qui explique qu'il y a une différence entre les doses de la même plante. Nous remarquons qu'il existe une différence significative également entre les stades larvaires de *T. absoluta* puisque la probabilité est de 0.009.

Nous enregistrons qu'il n'y a pas de différence de toxicité entre les deux huiles essentielles puisqu'elles possèdent des effets similaires sur les populations larvaires résiduelles. D'après l'analyse de variance il n'y a pas de différence significative entre l'effet de *Thymus capitatus* et celui de *Tetraclinis articulata* puisque la probabilité est supérieure à 5% (p=0.99).

Par ailleurs, l'étude phytochimique a permis la caractérisation de la composition chimique des huiles essentielles des trois plantes aromatiques étudiées :

-l'huile essentielle de *Thymus capitatus* est dominée par le carvacrol (69,6%) et le p-cymène (12,4%), suivie par le γ -terpinène (4,3%), le myrcène (2,1%), le α -terpinène (1,7%), le linalol (1,7%) et le terpinène-4-ol (1,1%).

-un total de 54 éléments représentant 95,9% de l'huile totale de *T. articulata* a été identifié. L'huile essentielle est fortement dominée par les monoterpènes hydrocarbonés (63,8%), suivis par les sesquiterpènes oxygénés (14,7%) et les sesquiterpènes hydrocarbonés (10,5%) ; toutefois, les monoterpènes oxygénés sont apparus en faible proportion (6,4%).

-l'analyse de l'huile essentielle de *D. crinitus* a permis d'identifier 30 éléments qui représentent 91,8% de la composition totale. Les principaux composants de cette huile sont les phénylpropanoïdes dont principalement l'isobutyrateisochavicol (44,9%). Les autres composants majeurs identifiés sont: l'isochavicol 2 méthylbutyrate (9,7%), le pentadécane (5,1%) et l'undécane (4,1%).

CONCLUSION GENERALE

Les extractions séquentielles des produits naturels de *T. articulata*, *T. capitatus* et *D. crinitus* sont effectuées avec un Soxhlet contenant 40 g de la matière végétale. Les rendements obtenus montrent des variations importantes entre les espèces. Ces résultats indiquent que *T. articulata* est riche en composés peu polaires qui a des affinités avec l'hexane et le chloroforme, avec des rendements de 12.58 et 4.94 % respectivement. Cependant, *T. capitatus* et *D. crinitus* semblent riches en composés polaires ayant une forte affinité pour l'éthanol et l'eau avec des rendements en extractibles de l'ordre de 13,17 % et 6.63 % pour l'extrait éthanolique et 8.56 et 5.22 % pour l'extrait aqueux.

L'huile essentielle de *T. capitatus* est plus active que celle de *T. articulata* et *D. crinitus*, elle a provoqué une inhibition totale de la croissance de tous les champignons à partir de 2 µg/ml. La deuxième huile essentielle la plus efficace avec ses sept champignons est celle de *T. articulata*, avec des pourcentages de réduction du mycélium de *F. oxysporum* (36.11%), *A. niger* (11.11%), *Penicillium sp1*(34.56%), *Penicillium sp2*(45.12%), *Botritis sp* (61%), *Alternaria* (35.12%) et *Trichoderma* (59 %), à la même concentration de 2 µg/ml.

Cette efficacité s'explique par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des sept champignons phytopathogènes.

L'évaluation des effets des extraits du *Thymus capitatus* sur la croissance du mycélium des moisissures montre que l'extrait hexanique possède le meilleur effet antifongique et inhibe totalement la croissance de toutes les espèces de moisissures testées, d'une manière dose dépendante, suivi des extraits chloroformiques et éthanoliques.

L'hydrolat de *T. capitatus* a inhibé la croissance mycélienne de 60%, 70% et de 80% pour *F. oxysporum*, *Penicillium sp1* et *Trichoderma sp.* respectivement, à partir de la concentration de 0.2 µg/ml, contrairement au contrôle pour lequel nous avons observé une pourriture totale des tomates. La réduction de la croissance du mycélium des colonies en présence des hydrolats de *T. capitatus* et *T. articulata* ont montré qu'ils contrôlent efficacement les souches de *F.oxysporum*, *A. solani*, *Trichoderma sp.* et *Penicillium sp1* et *sp2*. Cette efficacité peut s'expliquer par la présence de molécules actives qui inhibent la croissance des champignons phytopathogènes. Le pouvoir antifongique des hydrolats des deux plantes peut être attribué à leurs compositions chimiques.

CONCLUSION GENERALE

L'huile essentielle du thym séché a montré une activité antimicrobienne contre toutes les souches testées.

Les résultats obtenus à l'aide de la méthode de diffusion en puits pour *T. capitatus* frais montrent aussi une très bonne activité antimicrobienne. A la concentration de 5 µL, nous avons eu une inhibition totale avec des zones d'inhibition de 90 mm.

Les résultats de l'activité antibactérienne de *T. articulata* par la méthode de diffusion des disques sont similaires à ceux de la méthode de diffusion en puits puisque les bactéries sont totalement inhibées (90 mm) à la concentration de 10µL.

L'huile essentielle des racines de *Daucus crinitus* montre un degré de sensibilité différent vis-à-vis des bactéries pour les deux concentrations.

Les valeurs des CIMs des huiles essentielles contre les souches microbiennes étudiées démontrent que les huiles essentielles des trois plantes présentent des propriétés antibactériennes potentielles. Cependant, les huiles essentielles de *T. capitatus* et *T. articulata* présentent une activité très intéressante sur toutes les souches, avec des valeurs de CMI variant de 0.03 à 0.15 µL/mL.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces peut être partiellement associée à leurs principaux constituants tels que la carvacrol, sesquiterpènes hydrocarbonatés et phénylpropanoïdes. En fait, ces composés se sont précédemment montrés actifs contre de nombreux organismes et sont connus pour présenter une activité antibactérienne.

Pour conclure, Les huiles essentielles des plantes étudiées ont un effet antifongique, anti bactérien et insecticide important, elles peuvent donc être exploitées comme un traitement efficace et inoffensif contre les maladies de la tomate ou comme une nouvelle source potentielle des produits naturels pour la consommation et/ou l'industrie pharmaceutique.

Au terme de cette étude et en fonction des résultats obtenus, nous proposons pour de futurs travaux :

-de définir le nombre de générations du ravageur *Tuta absoluta* dans notre région pour ajuster les interventions prophylaxiques ;

CONCLUSION GENERALE

- Il est impératif de suivre sa progression en pleins champs et élargir des échantillonnages sur d'autres sites ;
- de tester ces biopesticides (huiles essentielles et extraits) en milieu réel (in vivo) pour évaluer leurs efficacités pratiques ;
- Vaporiser directement l'hydrolat des plantes sur les feuilles attaquées par la mineuse et d'en étudier l'efficacité insecticide et antimicrobienne ;
- Enfin, d'inciter les agriculteurs à respecter le plan de lutte et les mesures établies par l'INPV, en favorisant l'utilisation des produits naturels pour réduire l'action combinée de *T. absoluta* et de ces maladies microbiennes sans nuire à l'environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abou-Jawdah (Y.), Sobh (H.), Salameh (A.), 2002** - Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3208–3213.
- **Achhal (A.), Barrero (M.), Ech-Chamikh (S.), 1985** -*Productivité du thuya (Tetraclinis articulata (Vahl) Masters) dans le bassin versant du N'fis dans Ecologia Mediterraea*, Tome XI, Fascicule 2/3.
- **Agrios (G.N.), 2005**- *Plant Pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- **Ahmed-Messaoud (A.), Allal-Benfekih (L.) & Oumedi (H.), 2011**- Approche de controle des insectes ravageurs du chou par ('utilisation d'une Urticacee *Urtica urens* L. en Mitidja. Recueil des résumés, Serninaire International sur la protection des plantes, avril 2011, ENASA, El Harrach, Alger.
- **Aiboud (K.), 2012** – Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de bruche de niébé (Coleoptera : Bruchidae) et impact de traitement sur la germination des graines de *Vigna unguiculata*. Univ. Mouloud Mammeri. Tizi-ouzzou.83p.
- **Ait Taadaouit (N.), Nilahyane (A.), Hsaine (M.), Rochdi (M.), Hormatallah (A.), Bouharroud (R.), 2011**- L'effet des extraits végétaux sur la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). Actes du Premier Congrès International de l'Arganier, Agadir : 411-417.
- **Albuquerque (C.C.), Camara (T.R.), Marian (R.D.R.), Willadino (L.), Marcelino (C.), Ulisses (C.), 2006** - Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49, 527–535.
- **Alfano (J.R.) et Collmer (A.), 1997** -Type III (Hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins, and death. *J. Bacteriol.* 179: 5655-5662.
- **Allal-Benfekih(L.), Belatreche(M.), Bounaceur(F.), Tail(G.) et Mostefaoui (H.), 2011**- Première approche de l'utilisation d'extrait aqueus d'*Imula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Urtica urens* contre les stades endophytes de *Tuta absoluta*(Lepidoptera, Gelechiidae) Ravageur invasif de la tomate en Algérie. AFPP – Neuvième Conférence Internationale sur les ravageurs en Agriculture.Montpellier :681-783.
- **Al-Tarawneh (AA.), 2004** - Study on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected patients: copper uptak, hematological findings and effect of some medicinal plants. M.Sc. Thesis, Sudan University for Science and Technology, Sudan.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Alves (T.M.), Silva (A.F.), Brandao (M.), Grandi (T.S.), Samania (E.F.), Junior (A.S.) and Zani (C.L.), 2000** - Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Rio de Janeiro*, **95**(3): 367-373.

-**Amarti (F.), Satrani (B.), Aafi(A.), Ghanmi (M.), Farah (A.), Aberchane(M.), El Ajjouri (M.), El Antry(S.), Chaouch (A.), 2008**- Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of Moroccan *Thymus capitatus* and *Thymus bleicherianus*. *Phytothérapie* 6, 342-347.

-**Andersson (A.), Rönner (U.) et Granum (P. E.), 1995** - What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *International Journal of Food Microbiology* 28, 145–155.

-**Angioni (A.), Barra (A.), Russo (M.T.), Coroneo (V.), Dessi (S.), Cabras (P.), 2003** - Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. - *J. Agric. Food Chem.*, **51**(10), 3073-3078.

-**Apablaza (J.), 1990** – Solanaceae, tomate y otras solanaceas. In Lattore, B. Plagas de las hortalizas. Soantiago, FAO. 275-398.

-**Ayachi (A.), 2014** – Etude chimique et biologique des extraits de trois *Docus* (*D.crinatus*, *D. muricatus* et *D.carota* spp *hispanicus*) de la région de Tlemcen. Doctorat en Science.Université Tlemcen, 172p.

-**Azeredo (H.M.C), Faria (J.A.F.) et Bazylva (M.A.A.P.), 2004** – Minimization of peroxyde formation rate in soybeanoil by antioxydantcombonations. *Food Recherche International*. 4 :141-158.

-**Badaoui (M.) et Berkani (A.), 2009** – Identification de deux bio-agresseurs *Tuta absoluta* Meyrick et *Phthorimaea operculele* Zeller par la technique d'extraction des genitalias. Proceeding ; Colloque Internationale ; Gestion des risques phytosanitaires ; Problèmes phytosanitaires émergents et nouvelles technologie. Marrakech, 9-11 (AMPP).

- **Bagnouls (F.) et Gausson (H.), 1953** - Saison sèche et indice xéothermique bull. soc. Hist. Nat.Thoulouse.88 (3-4) .139-239.

- **Bajpai (V.K.), Rahman (A.), Kang (S.C.), 2007**- Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Industrial Crops and Products* 26, 28–35.

-**Bakkali (F.), Averbeck (S.), Averbeck (D.) et Idaomar (M.), 2008**- Biological effect of iessential oil. *Food and Chemical toxicology*.46 : 446-475.

- **Barbouche (N.), Hajjem (B.), Lognay (G.) & Ammar (M.), 2001**. Contribution a ('etude de l'activite biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Herit. (Solanaceae) sur le criquet pelerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5(2), p. 85-90.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Barnett (H.L.) et Hunter (B.B.), 1972 – Illustred genera of imperfect fungus. Burgess publishing company. Minnesota (USA). 3^{ème} édition.

-Barrero (A.F.), Herrador (M.M.), Arteaga (P.), Quílez (J.), 2003 - Chemical composition of the essential oils of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. - *J. Ess. Oil Res.*, **17**(1),166-168.

-Barrero (A.F.), Herrador (M.M.), Arteaga (P.), Quílez (J.) et al., 2005 –Chemical composition of the essential oils of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. - *J. Ess. Oil Res.*, **17**(1), 166-168.

-Barrientos (Z.R.), Apablaza, Norero (H.J.S.A.), Estay (P.P.), 1998- Threshold temperature and thermal constant for development of the south American tomato, *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae), *Ciencia e Inverstigation Agraria*, **25** :133-137.

-Batish (D.R.), Singh (H.P.), Kaur (S.), Kohli (R.K.), Yadav (S.S.), 2008- Caffeic acid affects early growth, and morphogenetic response of hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus*). *Journal of Plant Physiology*, **10** :1016-1025.

- Baser (K.H.C.), Kirimer (N.), Tumen (G.) et Duman (H.), 1998 - Composition of the essential oils of *Thymus canaoviridis* Jasas. *J. Essent. Oil Res.*, **10**, 199-200.

- Becerra (J.), Flores (C.), Mena (J.), Aqueveque (P.), Alarcón (J.), Bittner (M.), Hernández (V.), Hoeneisen (M.), Ruiz (E.), and Silva (M.), 2002 - *Antifungal and antibacterial activity of diterpenes isolated from wood extractables of chilean podocarpaceae*, *Bol. Soc. Chil. Quím.*, **47**, 151-157.

-Bellakhdar (J.), 1997 - *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Impressions DUMAS, Saint-Etienne.

-Belletti (N.), Nidagijimana (M.), Sisto (C.), Guerzoni (M.E.), Lanciotti (R.), Gardini (F.), 2004- Evaluation of the antimicrobial activity of Citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal agricultural Food Chemistry*.**52** (23) : 6932-6938.

-Benabid (A.), 2000. Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Édition Ibis Press, 159-161.

- Benhammou (N.) & Atik Bekkara (F.), 2005 - Contribution a l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d' *nu/a viscosa*. www.inpv.edu.dz, publications, 4p.

-Ben Jemia (M.), Chaabane (S.), Senatore (F.), Bruno (M.), Kchouk (M.E.), 2013- Studies on the antioxidant activity of the essential oil and extract of Tunisian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. (Cupressaceae). *Nat. Prod. Res.* **27**, 1419-1430.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Benton (J.J.), 1999**- Tomato plant culture : In the Field, Greenhouse and home garden : ISBN0-8493-2025-9 by CRC press LLC. 183p.
- **Bergey (D. H., F. C.), Harrison (R. S.), Breed (B. W.), Hammer et Huntoon (F.M.), (1923)** - Bergey's manual of determinative bacteriology, 1st ed.
- **Bernardet (J.-F.) et Nakagawa (Y.), 2003** - An introduction to the family Flavobacteriaceae. in The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community. Edn. 3, rel. 3.15.
- Bernardet (J.-F., P.) Segers (M.) Vancanneyt, Berthe (F.), Kersters (K.) et Vandamme (P.), 1996** - Cutting a gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family Flavobacteriaceae, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (basonym, *Cytophaga aquatilis* strohl and tait 1978). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46: 128-148.
- Bernardo (U.), 2009** – Un nuovo lepidoptero segnalato in Italia *Tuta absoluta* (Meyrick). Regione Campania Napoli. Istituto per la Protezione delle Piante (IPP), (CNR). Sezione di Portici. Via Università, 133. 28p.
- **Bianchi (A.), Zambonelli (A.), D'aulerio (A.Z.), Bellesia (F.), 1997**- Ultrastructural studies of the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi in vitro. *Plant Diseases* 81, 1241–1246.
- **Biever (C.), 2003** - Herb extracts wrap up lethal food bugs. *New Scientist*, 178 (2 399): 26-27.
- Bisio (A.), 2010** - Phytotoxic clerodane diterpenes from *Salvia miniata* Fernald (Lamiaceae). *Phytochemistry* (2010) PM ID 21130478.
- Bloemberg (G.) et Lugtenberg (B.), 2001** - Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Cur. Opin. Plant Biol.* 4: 343-350.
- **Bluma (R.), Landa (M.F.), Etcheverry (M.), 2009** - Impact of volatile compounds generated by essential oils on *Aspergillus* section *Flavi* growth parameters and aflatoxin accumulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89, 1473–1480.
- Bnouham (M.), Mekhfi (H.), Legssyer (A.) et Ziyat A., 2002**. Medicinal plants used in the Botanicals and Plant Allelochemicals in Integrated Pest Management. Pharmaceutical.
- Borgoni (P.C.), Silva (R.A.) et Carvalho (G.S.), 2003** - Leaf mesophil consumption by *Tuta absoluta* (Meyrick), (Lepidoptera : Gelichiidae) in three cultivars of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Ciencia rural*, Santa Maria : V23 n°1 jan Fév : 7-11.
- **Boriky (D.), 2005** - Etude analytique et valorisation par voie des propriétés insecticides de trois artimisia médicinales du Maroc (*Artimisia herba-alba* Asso , *Artimisia gracunculus* L. et

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Artimisiaabsintium L.). Thèse doctorat en chimie. Université Hassan II-Mohamadia, Faculté de ben M'sik. Casablanca, Maroc. P : 229

- **Botton (B.), Breton (A.), Fèvre (M.), Gautier (M.), Guy (P.), Larpent (J.P.), Reymond (P.), Sanglier (J.J.), Vayssier (Y.), Veau (P.), 1990-** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Ed Masson. Paris.

-**Brand (S.), 2000-**J. Systema Natura. Amsterdam. The Nederland.1989-2005.

- **Brisou (J.) et Pre´vot (A.R.), 1954** - Etudes de syste´matique bacterienne. X. Re´vision des e`speces re´unies dans le genre *Achromobacter*. Ann. Inst. Pasteur 86:722–728.

-**Bruneton (J.), 1999-** Pharmacognosie, Phytochimie. Plants medicinales. Eddition Techniques et documentation.3^{ème} Edition Lavoisier, Paris.1120.

- **Bouchelta (A.), Boughdad (A.) et Blenzar (A.), 2005** - Effets biocides des alcaldides; des saponosides, et des flavondides extraits de *Capsicum frutescens L.* (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 259.

-**Bouchra (C.), Achouri (M.), Hassani (L.M.I.), Hmamouchi (M.), 2003** - Chemical composition and anti-fungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. Journal of Ethnopharmacology 89, 165–169.

-**Bouddine (L.), Louaste (B.), Achahbar (S.), Chai (N.), Chamri (F.), Remmal (A.),2012** - Comparative study of the antifungal activity of some essential oils and their major phenolic components against *Aspergillusniger* using three different methods. Afr J Biotechnol, 11, 14083-14087.

-**Bounatirou (S.), Smiti (S.), Miguel (MG.), Faleiro (L.), Rejeb (MN.), Neffati (M.), Costa (MM.), Figueiredo (AC.), Barroso (JG.) and Pedro (LG.) , 2007** - Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food*.

-**Bounatirou (S.), Smiti (S.), Miguel (MG.), Faleiro (L.), Rejeb (MN.), Neffati (M.), 2010-** Thermal stability of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link.: Effect on the chemical composition and the antioxidant and antibacterial activities. *Acta alimentaria*;39(3):299–307.

-**Bourkhiss (B.), Ouhssine (M.), Hnach (M.), Amechrouq (A.), Chaouch (A.), Satrani (B.) (2007)** - Composition chimique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (vahl) du Maroc Physical & Chemical News (PCN). Vol. 35.

-**Bourkhiss (M.), Hnach (M.) Bourkhiss (B.), Ouhssine (M.) et Chaouch (A.), 2007a** - Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. Afrique Science 3, 232 – 242.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Bourkhiss (B.), Ouhssine (M.), Hnach (M.), Bourkhiss (M.), Satrani (B.) et Farah (A.), 2007b** - *Composition chimique et bioactivité de l'huile essentielle des rameaux de Tetraclinis articulata*, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, 75-84.

-**Bourkhiss (M.), Hnach (M.), Lakhlifi (T.), Bourkhiss (B.), Ouhssine (M.) et Satrani (B.), 2010**- Production et caractérisation de l'huile essentielle de la sciure de bois de *Tetraclinis articulata*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. Vol. 79. 4-11p.

-**Bousbia (N.), 2004**- Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Etude de leur activité antibactérienne. Option Science alimentaire, INA. Algérie.

-**Boutaleb Joutei (A.), 2010**- synthèse des résultats de recherche sur l'utilisation de quelque biopesticides d'origine végétale sur les cultures d'importance économique au Maroc. Proceeding du septieme Congrès de l'association Marocaine de protection des plantes.. Rabat, Maroc Proceedings su septième congréz de l'association marocaine de protection des plantes. Rabat , Maroc. Vol 2. 377-389.

- **Bouvet (P. J. M.) et Grimont (P. A. D.), 1986** - Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. Int. J. Syst. Bacteriol. **36**:228–240.

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

-**Cabello (T.), Gallego (J.R.), Villa (E.), Soler (A.), Del pino (M.), Carnero (A.), Hernandez-Suarez (E.) et Polaszket (A.), 2009** – Biological control of the south American tomato Pinworm *Tuta absoluta* (Lep : Gelechiidae), with releases of *Trichogramma ocaeae* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) on tomato greenhouses of Spain. Dpto. Biología Aplicada, Universidad de Almería, Ctra, Sacramento s/n 04 120-Almería Spain.225-230.

-**Caceres (S.), 2000** – La pollila del tomato en corrientes.manejo quimico-cultural. Bella Vista Estacio Experimental Agrpecuaria. Hoja de Divulgacion Nro.15, 2000.5p.

- **Caccioni (D.R.L.) et Guizardi (M.), 1994** - Inhibition of germination of fruit and postharvest pathogenic fungi by essential oil components. *J. Essent. Oil Res.*, 6, 173- 179.

-**Caillet (S.), Lacroix (M.), 2007**- Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier. (RESALA.), 1-8pp.

-**Cahill (M.), Gorman (K.), Day (S.), Denholm (I.), Elbert (E.), et R, 1996** - Nauen Baseline determination of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) (1996). Bulletin of Entomological Research 86: 343-349.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Camara (A.), 2009-** Lutte contre *Sitophilus orizae* L. (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum*herbst (Coleoptera :Tenebrionidae) dans les stocks du riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse –guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse Doct d'état en Science de l'environnement. Univ. Québec à Montréal.154p.
- Chabasse (D.), Bouchara (J.P.), De Gentile (L.), Brun (S.), Cimon (B.), Penn (P.), 2002-** Les moisissures d'intérêt medical. Cahier de formation n°25.Bioforma :159p.
- Chalchat (J.C.) et al., 2000** - Photochemical hydroperoxidation of terpenes. Antimicrobial activity of α -pinene and limonene hydroperoxides. *J. Essent. Oil Res.*, 12, 125- 134.
- Charpentier (B.), Hamon-Lorleac'h (F.), Harlay (A.), Huard (A.), Ridoux (L.) et Chanselle (S.), 2008** – Guide du préparateur en pharmacie. 3^{ème} édition, Elsevier Masson : 1358.Chem., 105: 146-155.
- Chiasson (H.) et Beloin (N.), 2007-** Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre » Antennae, Vol 14 : (N°1) :3-6.
- Chibane (A.), 1999** - Tomate sous serre, Bulletin: transfère de technologie en agriculture, n° 57. Ed. P.N.T.T.A. Rabat, 4p.
- Chikhoun (A.), Hazzit (M.), Kerbouche (L.), Baaliouameur (A.), Aissa (K.), 2013-** *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters essential oils: chemical composition and biological Activities. *J. Essent. Oil Res.* <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2013.77462>.
- Choux (C.) et Foury (C.), 1994** – Production légumière. Tome 3. Edition. Tech et Doc. Lavoisier. 563p.
- Cimanga (K.) et al., 2002** - Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacology*, 79, 213-220.
- Collado (J.), Fernández (A.), Rodrigo (M.), Camats (J.) et Lopez (A.), 2003** - M. Kinetics of deactivation of *Bacillus cereus* spores. *Food Microbiology* 20, 545–548.
- Collavino (M.D.) et Gimenez (R.A.), 2008** – Efficacy of imidacloprid to control the tomato bores (*Tuta absoluta*), Volume 26 N°1 : 65-72.
- Cooper (K.E.) et Woodman (D.), 1946** – The diffusion of antiseptics through agar gels, with special reference to the agar cup assay methods of estimating the activity of penicillin. *J.Path.Bact.L V III* : 75-84.
- Costa (J.M.) et Heuvelink (E.), 2000** – Greenhouse Horticulture in Almeria. Horticultural Production Chains Group, Wageningen University (Netherlands).119p.
- Costa (J.M.) et Heuvelink (E.), 2005** – Tomatoes. Edited by Ep Heuvelink. Crop production science in horticulture (13). ISBN 0-85199-396-6 : 352p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Cowan (M.M.), 1999** - Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 564-582.
- Cox (S.D.), Mann (C.M.), Markham (J.L.), Bell (H.C.), Gustafson (J.E.), Warmington (J.R.), Willie (S.G.), 2000**- The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tree oil). *J Appl Microbiol.* 88 : 170-175.
- Cox (S.D.), Mann (C.M.), and Markham (J.L.), 2001** - Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *J. Appl. Microbiol.*, 91, 492-497.
- **Cristiani (M.), D'arrigo (M.), Mandalari (G.), Castelli (F.), Sarpietro (M.G.) et Micieli (D.), 2007**- Interraction of four monoterpenes contained in essential oil with model membranes : Implication for their antibacterial activity . *Journal for Agricultural and food Chemistry.*55 : 6300-6308.
- Croteau (R.), Kutchan (T.M.) et Lewis (N.G.), 2000** – Natural product (Secondary metabolites) in Buchanan (B.), Grisseem (W.), Jones (R.) (Eds), *Biochemistry and molecular Biology of plants.* American Society of plants Physiologists : 1250-1268.
- Cseke (L.J.), Luc (R.), Korrnfeld (A.), Kaufman (P.B.), Kirakosyan (A.), Warber (S.L.), Duke (J.A.) et Brielmann (H.L.), 1999** – Natural product from plants, how and why these compounds are synthesized py plants. Edition Taylor and Francis, 2^{ème} édition.611p.
- Cutter (C.N.), 2000**- Antimicrobial effets of herb extract againts *E. coli* O157 : H7 *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection.*63 (5) : 601-607.
- **Daferera (D.J.), Basil (N.), Ziogas (N.), Polissiou (M.G.), 2003** - The effectiveness of plant essential oils on *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection* 22, 39–44.
- De Billerbeck (V.G.), Rocks (C.), Vaniere (P) et Marqier (P.), 2002**- Activité antimicrobienne et antifongique de produits à base d'huile essentielle. *Hygiène (Revue officielle de la société française d'hygiène hospitalière.*10 :248-251.
- De Brogolie (L.A.) et Guérout (D.), 2005** – Tomates d'hier et d'aujourd'hui. Paris, Hoëbeke 143.
- Decoin (M.), 2010** – Tomate, *Tuta absoluta* touche à l'atlantique, *Phytoma : la défense des végétaux*, n° 632. 44-45.
- **Delaquis (P.J.), Stanich (K.), Girard (B.) and Mazza (G.), 2002** - Antimicrobial of individual and mixed fraction of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Inter. J. of Food Microbiology*, 74: 101-109.
- Delarras (C.), 2007** – Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Technique et Documentations. Lavoisier, Paris.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Descamp (P.) et Véron (M.), 2007** - Une méthode de choix des caractères d'identification basée sur le théorème de Bayes et la mesure de l'information. *Ann. Microb.* 132 (B):157–170.

- **Desneux (N.), Wajnberg (E.), Wyckhuys (K.A.G.), Burgio (G.) , Arpaia (S.C.A), 2010**- Narva'ez-Vasquez, J. Gonzá'lez-Cabrera, D. Catala'n Ruescas , E. Tabone , J. Frandon, J. Pizzol, C. Poncet, T. ---Cabello & A. Urbaneja Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83:197–21.

-**Djennane (D.), Sanchez-Escalante (A.), Beltran (J.A.) et Roncales(P.), 2002**- Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxydative stability of beef steacks packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry.*76 :407-415.

-**Djennane (D.), Meddahi (A.) et Roncales (P.), 2006**- Les systèmes antioxydants et antimicrobien pour la conservation de la viande. *Sciences des aliments.*26 : 37-73.

- **Dorante (L.), Colmenro (R.), Hernandez (H.), MOTA (L.), Jaramillo (M.E.), Fernandez(E.) et Solano (C.), 2000**- Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extract. *International Journal Food Microbiology.* 57 : 125-128.

-**Dores (C.) et Varoquaux (F.), 2006** – Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Edition. INRA. Paris. 698p.

- **Dorman (H.J.D) et Deans (S.G.), 2000** - Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 308-316.

-**Drew (R. A.I.), 1989**- The tropical fruit fly (Diptera : Tephritidae) of the Australian and Oceania region. *Memoirs of Qeensland Museum, South Brisbane, Australia.*26.

-**DSA, 2010** – Direction des services agricoles de la wilaya de Tlemcen, Service des statistiques 2010.

- **Ebrahimi (SN.), Hadian (J.), Mirjalili (MH.), Sonboli (A.) and Yousefzadi (M.), 2008** - Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chem.*, 110: 927- 931.

- **Emberger (L.), 1955** - Classification biogéographique des climats. *Receuil trav.*

-**Estay (P.P), 2000** – Insectos, acaros y enfermedades asociadas al tomate en Chile Santiago, INIA Centro regional de inverstigacion, la platina : 111p.

-**Estey (P.P.), Bruna (A.), 2002**- Pollila del Tomate *Tuta bsoluta* (Meyrick). I. NLA la Platina (9) :1-4.

-**Européenne pharmacopée, 2004** - (ed (5th)), Council of Europe, 217-218. Strasbourg Cedex, France.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Eymard (S.), 2003** – Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation de chinchard (*Trachurus trachurus*), Choix des procédés, Thèse de Doctorat en Génie des procédés (Ecole Doctorale en Génie de procédés : Spécialité, Biochimie). Nante. France.
- **FAO., 2008** - L'actualité agricole en Méditerranée. Ed. CIHEAM ,33 p.
- Faoast, 2010** – Données de la base statistique de l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture sur site : [http : apps.fao.org](http://apps.fao.org).
- **Fardeau (J.C.) & Jonis (M.), 2003** - Phytostimulants et eliciteurs pour vegetaux : proprietes et garanties reglementaires - Serninaire sur les recherches en agriculture biologique INRAACTA Draveil, 20-21, nov 2003, 8p.
- Favier (J.), Irland-Ripert (J.), Toque (C.) et Feinberg (M.), 2003** – Répertoire général des aliments. Edition. Ciqual : 40-48.
- Ferreira Raphal de paula Duarte, 2008** – Major densida de de tricomas glandulares em foliolos de tomateiro esta relacionada a major resistencia a traça. Projeto Orientado apresentado ao Departamento Agricultura de Universidade Federal de Larvas como parte das exigencias do curso de Agronomia, para a obtencao do titulo de Engenheiro Agronomo : Orientador Prof. Wilson Roberto Maluf larvas Minas Gerais-Brasil2008. 26p.
- Filho (M.M.), Viela (E.F.), Jhamb (G.N.), Attygallec (A.), Svatos (A.) et Meinwald (J.), 2000** – Initial studies of Mating Disruption of the Tomato Moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). Using Synthetic Sex Pheromone ; J. Braz. Soc, Vol (11) n°6 : 621-628.
- **Fiori (A.C.G.), Schwan-Estrada (K.R.F.), Stangarlin (J.R.), Vida (J.B.), Scapim (C.A.), Cruz (M.E.S.), Pascholati (S.F.), 2000** - Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. Journal of Phytopathology 148, 483–487.
- Fisher (S.), 2003** – Compored efficiency of several implantations methods of the predatory bug *Macrolophus coliginus*. Colloque Internationale tomate sous abris. Avignon, 17, 18 et 19 sep 2003.
- Fisher (K.) et Phillips (C.), 2006-** The effect of Lemon, Orange and Bergamot essentials oils and their components on the survival of *Campilobacter jejuni* *E.coli* O157, *Listeria monocytogene*, *Bacillus cireus* and *Staphylococcus aureus*, in vitro and in food systems. Journal of Applied Microbiology.101 (6) : 1232-1240.
- Fisher (K.), Rowe (C.) et Phillips (C.), 2007-** The survival of three strains of *Acrobacter butzleri* in the presence of lemon orange and bergamot essential oil and their components in vitro and food. Letters in Applied Microbiology.44 : 495-499.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fitt (G.P.), 1989**- The role of interspecific in the dynamics of tephritid populations. In Fruits flies, their biology, Natural Enemies and Control. World Crop pests (Ed A.S. Robinson and Hooper), Vol.3B, Elsevier, Amsterdam : 281-300.
- Fralish (J.S.), 2002** - Taxonomy and ecology of Woody Plants in North American Forests (Excluding Mexico and Subtropical Florida). John Wiley & Sons, ed., New York.
- **Franchomme (P.), 1981** - L'aromatologie à visée anti-infectieuse. 1-2, 25-47.
- Fravel (D.), Olivain (C.), Alabouvette (C.), 2003**- *Fusarium oxysporum* its biocontrol. fungal strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 6939–6946.
- Gehan (I.Kh.), Marei, Mona (A.), Abdel Rasoul, Samir (A.M.), Abdelgaleil, 2012** - Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenesis fungi. Pesticide Biochemistry and Physiology. 103 : 56-61.
- Gergis (V.), Spiliotis (V.) et Poulos (C.), 1990** - Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species. *Pharmazie*, 45, 70.
- Ghelamellah (A.), 2008**- Contribution à l'étude bioécologique de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Lepidoptera).
- **Ghera (R.) et Woese (C.R.), 1992** - A partial phylogenetic analysis of the "*flavobacter-bacteroides*" phylum: basis for taxonomic restructuring. *Syst. Appl. Microbiol.* 15(4): 513-21.
- Giordani (R.), Hadeif (Y.) et Kaloustian (J.), 2008** - Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79, 199- 203.
- Guba (R.), 2001**- Toxicity myths –essential oils and their carcinogenic potential. *International Journal of aromatherapy*.11 : 76-83.
- Guenaoui (Y.), 2008**- Nouveau ravageur de la tomate en Algérie, *Phytoma* : N°617 juillet-aout 2008.18-19p.
- Guenaoui (Y.), 2010**- *Tetranychus evansi* (Baker et Pritchard) (Acari : Tetranychidae acarien invasif) signalé sur culture de tomate à Mostaganem dans le nord-ouest de l'Algérie EPPO +Bulletin Volume 40, Issue 2, DOI : 10.1111/j.1365-2338.2010.193-195p.
- Guenaoui (Y.), Bensaad (R.), Abdeslam (K.), 2010**- Introduction and distribution of *Tuta absoluta* in Algeria. First experiences in managing tomato leaf miner in the Northwest area of the country. Preliminary studies in biological control by use of indigenous natural enemies. AESID collaboration project. « Strategies of integrated management of *Tuta* “. Valencia Polytechnic University-University of Mostaganem. 1st International Phytoma Spain Encouter on *Tuta absoluta* tomato leaf miner, a serious problem in expansion Valencia, Phytoma Espagne. La revue professionnelle de la santé des végétaux ISSN 1131-8988 N° 217-210. 112-113p.
- Guenaoui (Y.), Ghelamellah (A.), 2008**- *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera) (Gelechiidae) nouveau ravageur de la tomate en Algérie premiers données sur sa biologie en fonction de la température. AFPP-8^{ème} Conférence Internationale sur les Ravageurs en

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agriculture, Montpellier SupAgro, France, 22-23 octobre 2008. ISBN 2-905550-17-1. 645-651P.

- **Guillen (M.D.) et Manzanos (M.J.), 1998** - Study of composition of different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. *Plant Food Chem.*, 3, 373-383.

-**Guinebretière, M.-H. et al., 2008** - Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environmental Microbiology* 10, 851–865 (2008).

- **Greco (J.), 1966** – L'érosion, la défense et la restauration des sols, et le reboisement en Algérie. Min. Agri. Ref. Agr. Alger : 303p.

- **Crosby (D.G.), 1966** - Natural pest control agents. In Gould, R.F. (Ed.). *Natural Pest Control Agents* (1966). *Adv. Chem. Ser.* 53. 1-16

- **Gtz-Dfpy, 1996** - Rapport atelier a Niamey/Niger 28/10 au 08/11/1996 sur ('utilisation des plantes et extraits de plantes dans la protection des cultures et des récoltes : 21p.

-**Gumus (T.), Demirci (A.S.), Sagdic (O.), Arici (M.), 2010**- Inhibition of heat resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. *Food Sci. Biotechnol.* 19, 1241-1244.

-**Haas (D.) et Défago (G.), 2005** -Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.

- **Hadian (J.), Ghasemnezhad (M.), Ranjbar (H.), Frazane (M.), Ghorbanpour (M.), 2008** - Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 11, 553–562.

- **Hammer (K.A.), Carson (C.F.), and Riley (T.V.), 2003**- Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil, *J. Appl. Microbiol.*, 95, 853-860.

-**Hannequin (C.) et Lavarde (V.), 1998**- Infection à *Penicillium*. *Encycl. Med. Chir.* (Elsevier, Paris), maladies infectieuses, 850-A-11.

-**Haougui (A.), 1998**- Les pratiques culturale et leurs effets sur les ennemies des cultures, INRAN Niamey.10p.

-**Harris (P. L.), 1989** - *Children and emotion*. Cambridge University Press, New York.

- **Hernandez-Ochoa (L.R.), 2005**- Substitution de solvants et de matières actives de synthèse par combiné (Solvants/Actifs). D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse. France.

-**Himed (L.), 2011**- Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon* : application à la margarine. Université Montouri, Constantine, Algérie, 91p.

-**Hirsch (P.), Ludwig (W.), Hethke (C.), Sittig (M.), Hoffmann (B.) et Gallikowski (C.A.), 1998** - *Hymenobacter roseosalivarius* gen. nov., sp. nov. from continental Antarctica soils and

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

sandstone: bacteria of the *Cytophaga/Flavobacterium/Bacteroides* line of phylogenetic descent. *Syst. Appl. Microbiol.* 21: 374- 383.

-**Höfte (M.) et de Vos (P.), 2006** - Plant pathogenic *Pseudomonas* species. In: *Plant-associated bacteria*. Part. 3, Gnanamanickam, S.S. (Eds). Springer, Netherlands, pp. 507-533.

- **Holmes (B.), 1992** - The genera *Flavobacterium*, *Sphingobacterium* and *Weeksella*, p. 3620-3630. In A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K.-H. Schleifer (ed.), *The prokaryotes*, 2nd ed., vol. 4. Springer-Verlag, Berlin.

-**Huat (J.), 2008**- Diagnostic sur la variabilité des modes de conduire d'une culture et de leurs conséquences agronomiques dans une agriculture fortement soumise aux incertitudes : cas de tomate de plein champ à Mayotte. Thèse présentée pour obtenir le grade de docteur à l'institut des Sciences et Industries du Vivants et de l'Environnement (Agro Paris Tech) Spécialité : Agronomie. 256p.

-**Hussain (AI.), 2008**- Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Doctoral thesis. Pakistan, 257p.

-**Hussain (AI.), Anwar (F.), Chatas (SAS.), Jabbar (A.), Mahboob (S.), Nigam (PS.), 2010**-Rosmarinus officinalis essential oil : antiproliferative, antioxydant and antibacterial activities. *Braz J Microbio.* 41 :1070-1078.

- **Hussain (AI.), Anwar (F.), Ths Sherazi, Przybyisky (R.), 2008**- Chemical composition antioxydant and antimicrobial activities of basil (*Ocinum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem.* 108 :986-995.

- **Inouye (S.), Tsuruoka (T.), Uchida (K.), and Yamaguchi (H.), 2001**- Effect of sealing and tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils, *Microbiol. Immunol*, 45, 201-208.

-**I.N.P.V., 2008** – Nouveau déprédateur de la tomate : Etat des lieux et programme d'action. Note de l'institut National de la protection des végétaux. Ministère de l'Agriculture, Algérie, Juillet.

-**I.N.P.V., 2011** - Nouveau déprédateur de la tomate : Etat des lieux et programme d'action. Note de l'institut National de la protection des végétaux. Ministère de l'Agriculture, Algérie, Juillet.

- **Isman (B.M.), 2000** - Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603–608.

- **Jaiswal (R.), Beuria (T.K.), Mohan (R.), Mahajan (S.K.), and Panda (D.), (2007)** - *Totarol Inhibits Bacterial Cytokinesis by Perturbing the Assembly Dynamics of FtsZ*, *Biochemistry*, 46.

-**Johnson (K.S), 2005**- Plant phenolics as radical scavengers in the context of insect (*Manduca sexta*) hemolymph and midgut fluid « *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 : 10120-10126.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Kacem (N.E.), 1991 - Germination ; Croissance ; Caractéristiques ; Anatomiques et Histochimique de la tige de thuya. (*Tetraclinis articulata* (vahl) Mast). Thèse de Magister.

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

-Karaman (S.), Digrak (M.), Ravid (U.A.) et Ilcim (A.), 2001 - Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak. from Turkey. *J. Ethnopharmacology*, 76, 183-186.

-Karaman (I.), Sahin (F.), Gulluce (M.), Ogutcu (H.), Sengul (M.) and Adiguzel (A.), (2003)- Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J. Ethnopharmacology*, 85: 231-235.

-Karousou (R.), Koureas (D.N.), Kokkini (S.), 2005- Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*;66 (22):2668–73.

-Karousou (R.), Koureas (D.N.) & Kokkini (S.), 2005-Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Photochemistry*, 66, 2668-2673.

-Kehlenbeck, Baufeld et Schrader, 2010 – *Tuta absoluta*. Auftretensmeldung in Tomatenpackstation in den Niederlanden (Wichtiger Tomatenlieferant für DE. Institut für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit.13p.

-Keita (S.M.), Vincent (C.), Schmit (J.P.), Arnason (J.T.), 2001- Insecticidal effect of *Tuja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculatus*, *Canadian Journal of Plant Science*, Vol 81 : (N°01) :173-177.

-Kellouche (A.) et Soltani (N.), 2004 -Activité biologique de poudre de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elle sur *Callosobruchus maculatus* (F) *International Journal of Tropical Insect Science* Vol. 24 (N°01) :184-191.

-Kellouche (A.), 2005- Etude de la bruche du pois-chiche *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera : Bruchidae) : Biologie, Physiologie, reproduction et lutte. Thèse Doct d'état. Univ. Tizi-ouzou. 154p.

-Kellouche (A.), Ait –Aider (F.), Labdaoui (K.), Moula (D.), Ouendi (K.), Hamadi (N.), Ouramdane (A.), Frerot (B.), Mellouk(M.), 2010- Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (F), *Int Journal, Integ, Biol*, Vol 10 :86-89.

-Kiliç (T.), 2010 – First record of *Tuta absoluta* in Turkey, Turkish Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Plants Protection Research Institute. Gençlik Caddesi n°6, Bornova 35040, Izmir, Turkey, *Phytoparasitica*.2p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Khalfi -Habes (O.), Boutekdjiret (C.) & Hacib (H.), 2009** - Evaluation du potentiel biopesticide de trois huiles essentielles extraites de plantes algériennes sur *Rhyzoperta dominica* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae). Proceedings du Colloque International sur la gestion des risques phytosanitaires, vol.1, 297-307.
- Klement (Z.), 1982** - Hypersensitivity. In: *Phytopathogenic prokaryotes*. Vol. 2, Mount, M.S. and Lacy, G.H. (Eds). Academic Press, Inc., New York, USA, pp. 149-177.
- **Knobloch (K.), Pauli (A.), Iberl (B.), Weigand (H.), and Weis (N.), 1989** - *Antibacterial and antifungal properties of essential oil components*, J. Ess. Oil Res., 1, 119-128.
- Koba (K.), Sanda (K.), Reynaud (C.), Nenonene (Y.A.), Millet (J.) et Chaumont (j.p.), 2004** – Activité antimicrobienne d’huile essentielle de trois *Cymbopogon* sp. Vis-à-vis des germes pathogènes d’animaux de compagnie. Annales de Médecines Vétérinaire 148 : 202-206.
- Kokkini (S.) et al., 1997**- Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, 44(5), 883-886.
- Korcycinska (A.) et Moran (H.), 2009** – Avis de plantes Nuisibles, n°56, la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* de l’Amérique de Sud. FERA, the Food and Environnement Recherche. Agency. PASS, Sand Hutton, York.4p.
- **Kordali (S.), Cakir (A.), Ozer (H.), Cakmakci (R.), Kesdek (M.), Mete (E.), 2008** - Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology* 99, 8788–8795.
- **Kubo (I.), Muroi (H.), and Himejima (M.), 1992** - *Antibacterial activity of totarol and its potentiation*, J. Nat. Prod. **55**, 1436-1440.
- Kuda (T.), Iwai (A.) et Yanot (T.), 2004** – Effect of red pepper *Capsium annumvar.* Conidies and garlic *Allium sativum* on plasma lipid level and cecal microflora in mice fed beef tallow. *Food Chemistry Toxxicology*, 42 : 1695-1700.
- Kulevanova (S.), Panovska (TK.), 2001**- Antioxydant activity of essential oil of different Wild *Thymus* L. *Species. Bull Chem. Technol. Macedonia.* 20 :61-66.
- **Kunle (O.), Okogun (J.), Egamana (E.), Emojevwe (E.) and Shok (M.), 2003** - Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, 10: 59-61.
- Lacordaire (A.) et Feuvrier (E.), 2010**- Tomate, traquer *Tuta absoluta*. Suivi de 16 exploitations de production de tomate, pour savoir où et comment chercher pour trouver *Tuta* tôt et tester un prédateur. *Phytoma, la défense des végétaux*, n°632 : 41-44.
- Lacroix (M.), 1998**- Système racinaire de la tomate sous serre, champignons phytopathogènes et environnement. Agronome-phytopathologiste, laboratoire de

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

diagnostique et phytoprotection. Direction de l'innovation scientifique et technologie. Ministère de l'Agriculture, des pêcheries et de l'Alimentation. Québec.17p.

- **Lambert (R.J.W.), Skandamis (P.N.), Coote (P.J.), Nychas (G.J.E.), 2001**- A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91, 453–462.

-**Lamarck (M.) et Poiret (J.L.M.), 1811** – Encyclopédie méthodique botanique. Tome II. Agasse.Paris.

-**Lambert (L.), 2006**- Lutte antiinsectes appliquée aux tomates de serre, MAPAQ ; (Qc). Profil de la culture des tomates de serre au Canada Programme de réduction des risques liés aux pesticides Centre pour la lutte antiparasitaire. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Aout2006.

- **Lamiri (A.), Lhaloui (S.), Benjilali (B.) et Berrada (M.), 2001** - Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola Destructor* (Say). *Field Crops Res.*, 71, 9-15.

- **Landreau (A.), 2001** -Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes : 201 p.

-**Lanfranchi (DA.), Louer (H.), El Kolli (M.), Prado (S.), Mauley-Baily (C.), Baldovini (N.), 2010**-Bioactive phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. From Algeria. *J Agric Food Chem.*58 :2174-2179.

-**Larpent (J.P.), 1990** – Moisissures utiles et nuisibles. Importance Industrielle.2^{ème} édition. Masson, Paris.512p.

-**Lapidus, A. et al., 2008**- Extending the *Bacillus cereus* group genomics to putative food-borne pathogens of different toxicity. *Chemico-Biological Interactions* 171, 236–249 (2008).

-**Lardy (J.M.) et Haberkorn (V.), 2007** – L'aromathérapie et les huiles essentielles. Revue de Kinésithérapie, 61 :14-17.

-**Leboeuf (J.), Shorti (R.), Tan (C.), Verhallel (A.), 2008**- Etablissement d'un calendrier d'irrigation pour les tomates-Introduction. Spécialiste de culture des légumes, MAAARO, Ridgeway Bureau régional du Nord de l'Ontario. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des affaires rurales. Note technique.12p.

-**Leite (G.L.D.), Picanço (M.), Jham (G.N.) et Marquini (F.), 2003** – Intensity of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae) and *Liriomyza spp.* (Diptera : Agromyzidae) attacks on *Lycopersicon esculentum* Mill. Leaves. *Cienc. Agrotec, Larvas*, Vol (28) n°1 : 42-48.

-**Lemanceau (P.), Expert (D.), Gaymard (F.), Bakker (P.A.H.M.) et Briat (J.F.), 2009** - Role of iron in plant–microbe interactions. *Adv. Bot. Res.* 51: 491-549.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Letessier (M.P.), Svoboda (K.P.), Walters (D.R.), 2001-** Antifungal activity of the essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Journal of Phytopathology* 149, 673–678.
- Lietti (M.M.), Botto (E.) et Alzogaray (R.A.), 2005** – Insecticide Resistance in Argentine Populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Neotropical Entomology* 34 (1) : 113-119.
- **Lillard-Roberts (S.), 2004** - *Trichoderma harzianum*. *Mold-Help* [en ligne].[consulté le 21 octobre 2004]. Disponible sur : <http://mold-help.org/content/view/431/>.
- Lin (Y.T.), Labbe (R.G.) et Shetty (K.), 2004** – Inhibition of *Listeria monocytogenes* in fish and meat systems using Oregano and Cramberry synergies. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 :5672-5678.
- López (P.), Sánchez (C.), Battle (R.), Nerin (C.), 2007** - Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4348–4356.
- Lopez, 1991-** Pollila del tomate : Problema critico para la rentabilidad del cultivode verano. *Empresaaaaa y vance Agricole* 1 (5) : 6-7.
- López (P.), Sánchez (C.), Battle (R.), Nerin (C.), 2005** - Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacteria and.
- **Loziene (K.), Venskutonus (P.R.), Sipailiene (A.) et Labokas (J.), 2007** - Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chem.*, **103**, 546-559.
- Madr, 2009** – Ministère de l’agriculture et du développement rural. Direction des statistiques.
- Magalhaes (S.T.V.), Jham (G.N.), Picanco (M.C.), et Magalhaes (G.), 2001** – Mortality of second-instar larvae of *Tuta absoluta* produced by hexane extract of *Lycopersicon Hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) leaves, *Agricultural and forest Entomology* (3) : 297-303.
- Mahdi (K.), Doumandji (B.) et Doumandji (S.), 2011-** Effet de la température sur le cycle de développement de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* dans l’Algérie. *ARRP*. Montpellier.
- Majhenic (L.), Kerget (M.S.) and Knez (Z.), 2007-** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104: 1258-1268.
- Mallia (D.), 2009** – Guidelines for the control and eradication of *Tuta absoluta*. Plant Health Department, plant Biotechnology Centre Annibale Preca Street Lijia, LJA1915 Malta. Ministry for Resources and Rural Affairs and Paying Agency Division plant Health Department.4p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Marcano (R.), 2007** – Minador Pequeno de la hoja del tomate ; palomolla pequena ; Minador dle tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) 1917. Plagas Agrícolas de Venezuela : Artrópodos y Vertebras. Soocidad Venezuela d'Entomologia. 4p.
- Marchiori (C.H.), Silva (C.G.) et Lobo (A.P.), 2004** – First occurence of the parasitoid *Comura sp.* (Hymenoptera : Chalcididae) in pupae of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae) in tomato in larvae, minas gerais, Brazil : Arq. Inst. Biol. Sao Paulo, Vol 70 n°1 : 115-116.
- Marin (M.S.), Quercetti (M.J.), Bruno (E.A.D.) et Caballero (A.E.), 2002** – *Tuta absoluta*, rearing in laboratory conditions, Congreso Argentino de Horticultura Jujuy.2001. Departamento de Ciencias Biologicas. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Casilla de Correo7. M5528AHB Chacras de Coria. Mendoza, Argentina. Almirante Brown n°500.6p.
- Marino (M.), Bersani (C.), Comi (G.), 2001**- Impedance measurements to study the.
- Martínez-Romeroa (D.), Guilléna (F.), Valverdea (J.M.), Bailéna (G.), Zapataa (P.), Serranob (M.), Castilloa (S.), Valero (D.), 2007**- Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. International Journal of Food Microbiology 115, 144–148.
- **Miceli (A.), Negro (C.), Tommasi (L.), 2006**- Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochem Syst Ecol.*;34(6):528–35.
- Mittelstrab (K.), Treutter (D.), Pleb1 (M.), Heller (W.), Elstner (E.F.) et Heiser (L.), 2006** – Modification of primary and secondary metabolism of potato plants by nitrogen application on differentially affect resistance to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solni*. Plant Biology 8 : 653-661.
- Mohamed-benkada Mustapha, 2006** - Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Th. Pharmacie : Nantes : 9, 10, 11, 12,13.
- Mohamed (H.A.A.) et Haggag (W.H.), 2003** – Biocontrol potential of salinity tolerant mutant of *Trichoderma* against wild of tomato, Colloque International sans abris. Avignons.
- Molla (O.), Monton (H.), Beitia (F.) et Urbanija (A.), 2008**- La pollila del tomate, una nueva plaga invasora, *Tuta absoluta* (Meyrick), Eds. Agrotécnicas, S.L. CIF B80194590 Terallia.
- Moniharapon (E.) and Hashinaga (F.), 2004**- Antimicrobial activity of Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk) fruit extract. *Pak. J. Bio. Sci.*, 7(6): 1057-1061.
- Morad (p.) et Martinez (S.), 1999** – Tomate Progres. Un nouveau système de recyclage des solutions nutritives. Laboratoire d'Ingenierie Agronomique, ENSAT, BP107, 31320. Catamet Tolosan, INP/Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie Toulouse. Note technique 5p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Mokrini (F.), Abbad andalousi (F. A) & El Aissami, 2010** - Effet de quelques extraits des olantes contre le nematode a galle *Meloidogyne incognita* associées à la culture de la tomate dans la region du Ghareb. Proceeding du septieme Congrès de l'association Marocaine de protection des plantes.Rabat, Maroc. Vol 2. P : 427-436.
- **Mouhouche (F.) & Bezzaze (G.), 2007**- Activite biologique de quatre extraits vegetaux sur le criquet pelerin, *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775). Résumés de la 17 eme Conference de.
- **Muller-Riebau (F.), BERGER (B.), YEGEN (O.), 1995**- Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J Agric Food Chem*, 43, 2262-2266.
- Naika (S.), Jeude (J.V.L.), Goffau (M.), Hilmi (M.) et Dam (B.V.), 2005** – Agrodoc 17, la culture de la tomate, production, transformation et commercialisation Editor. Barbara van Dam/ la culture de la tomate : 105p.
- **Nakagawa (Y.) et Yamasato (K.), 1993** - Phylogenetic diversity of the genus *Cytophaga* revealed by 16S rRNA sequencing and menaquinone analysis. *J. Gen. Microbiol.* **139**: 1155-1161.
- **Ndukwe (IG.), Bello (AI.), Habila (JD.) and John (C.), 2007**- Phytochemical and antimicrobial screening of the crude petroleum spirit and methanol extracts of the stem bark, leaves and roots of *Ficus thonningii* (blume). *African J. Biotech.*, **6**(23): 2645-2649.
- **Nielsen (P.V.) et Rios (R.), 2000** - Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.*, **60**, 219-229.
- **Nwaogu (LA.), Alisi (CS.), Igwe (CU.) and Ujowundu (CO.), 2008** - A comparative study of the antimicrobial properties of the ethanolic extracts of *Landolphia owariensis* leaf and root. *African J. Biotech.*, **7**(4): 368-372.
- OEPP, 2008c** – Premier signalement de *Tuta absoluta* en Maroc. Ravageurs et maladies. Services d'Information n°7, 1, rue le Notre 75016. Paris.28pages.
- OEPP, 2008a** – Premier signalement de *Tuta absoluta* en Espagne. Ravageur et maladies. Service d'Information n°1. 1, rue le Notre 75016 Paris.25p.
- OEPP, 2008b** – First record of *Tuta absoluta* in Algeria. Ravageurs et Maladies. Service d'informations n°7, 1, rue le Notre 75016. Paris.
- OEPP, 2009** – First report of *Tuta absoluta* in Tunisia. Ravageurs et maladies. Service d'Information n°4. 1 rue le Notre 75016 Paris, 25p.
- OEPP, 2009b** – Premier signalement de *Tuta absoluta* en Libye. Ravageurs et amaladies. Services d'Information n°9, 1 rue le Notre 75016. Paris. 23pages.
- OEPP, 2010a** – Premier signalement de *Tuta absoluta* en Bulgarie, Chypre et en Allemagne. Ravageurs et maladies. Service d'Informations n °01, 1, rue le Notre 75016. Paris. 27pages.

REFERERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- OEPP, 2010b** – Premier signalement de *Tuta absoluta* en Hongrie. Ravageurs et maladies. Service d'Information n°3. 1, rue le notre 75016 Paris, 25p.
- Oliveira (C.R.F.), Cysneiros (M.C.H.) et Hatano Eduardo, 2007** – Occurrence of Pyemotes sp. On *Tuta absoluta* (Meyrick) : Brazillian Archives of Biology and Technology. ISSN 1516-8913. Vol 50 n° 6 : 929-932.
- Omidbeygi (M.), Barzegar (M.), Hamidi (Z.) et Naghdibadi (H.), 2007** – Antifungal activity of time, summer savory and clove essential oil against *Aspergillus xavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control, 18 : 1518-1523.
- Ouraini (D.), Agoumil (A.), Ismaili-laoui (M.), Alaoui (K.), Charrah (Y.), Amrani (M.) et Bellabas (M.A.), 2005** – Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriété antifongique sur les différentes étapes du développement des dermaphytes. Phytothérapie, 4 : 147-157.
- Oussalah (M.), Caillet (S.), Saucier (L.) et Lacroix (M.), 2006** – Mechanism of action of Spanish oregano, Cherese connamon and savory essential oils against cell membranes and walls of *E.coli* 0157 :H7 and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 69 (5) : 1046-1055.
- Oussou (K.R.), Coffi (K.), Nathalie (G.), Seriyolou, Gerard (K.), Mireille (D.), Yao (T.N.), Gilles (F.) et Jean-Claude (C.H.), 2004** – Activié antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Cote-d'hivoir. Comptes rendus de Chimie, 7 : 1081-1086.
- Ozcan (M.M.), Chalchat (J.C.), 2008** - Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. International Journal of Food Sciences and Nutrition 59, 691–698.
- Oxenham (S.K.), Svoboda (K.P.), Walters (D.R.), 2005-** Antifungal activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Phytopathology 153, 174–180.
- Palleroni (N.J.), 2008** - The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P. (Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.
- Panizzi (L.), Flamini (G.), Gioni (P.L.) et Morelli (I.), 1993** - Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean lamiaceases. *J. Ethnopharmacology*, 39, 169-170.
- Papadopoulos (AX.), 1991-** Growing greenhouse tomatoes in soil in soiless media : 3minister of Supply and Services Canada 1991 Cat.n°.A53-186511991^E ISBN O-662-18859-4, 77p.
- Parekh (J.), Jadeja (D.) and Chanda (S.)2005-** Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turk. J. Bio.*, 29: 203-210.
- Pareyra (P.C.) et Sanchez (N.E.), 2006** – Effect of two Solanaceous Plants on developpmental and Population Parameters of the Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) : Neotropical Entomology 35 (5) : 671-676.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Paster (N.) et al., 1990** - Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on molds and foodborne bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.*, 11, 33-37.

-**Pauli (A.), 2001** – Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, 11 : 126-133.

- **Pellecuer (J.), Jacob (M.), Simeon de Buechberg (M.) et Allegrini (J.), 1980** - Therapeutic value of the cultivated mountain savory (*Satureia Montana* L.). *Acta Hort.*, 96, 35-39.

-**Pereira (G.V.N.), 2005**- Selecao para alto teor de Acilacucares em genotipos de tomateiro e sua relacao com a resistencia ao acaro vermelho (*Tetranychus evansi*) e a traça (*Tuta absoluta*) tese apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigencias do programa de Pos-graduacao em Agronomia, area de concentracao Genetica e Melhoramentos de Plantas, para a obtencao do tiltulo de « Doutor ».82.

-**Pesson (P.), 1794** – Polinisation et production végétale. Edition. INRA.663p.

-**Petson (A.), 2009** – *Tuta absoluta* en Russie, Biologiste principal de la région de Kaliningrad. Service phytosanitaires. www.tutaabsoluta.fr. Date de consultation 12/06/2010.

-**Philouse (J.) et Laterrot (H.), 1992** – La tomate. Ed. Masson, Paris, 588p.

-**Pibiri (M.C.), 2005** – Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilations au moyen d’huiles essentielle. Thèse de Doctorat. Polytechnique fédéral de Lausanne.

- **Picanc (O.), Leite (A.), Guedes (G.L.D.), Silva (R.N.C.), E.A., 1998** - Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing. *Crop Prot.* 17, 447– 452.

-**Picanço (M.), Leite (G.L.D.), Guedes (R.N.C.), Silva (E.E.A.), 1999** – Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plants spacing. *Crop, Protection*, London, v 17 n°5, 447-452.

-**Pintore (G.), Usai (M.), Bradesi (P.), Juliano (C.), Boatto (G.), Tomi (F.), Chessa (M.), Cerri (R.) et Cassanova (J.), 2002** – Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Oil from Sardina and Corsica. *Fowers and fragrance Journal*, 17 : 15-19.

-**Piochon (M.), 2008** – Etude des huiles essentielles d’espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activité pharmacologiaues et hémi-synthèse. Mémoire, Univ. Québec à Chicoutimi, Canada.

-**Pires (D.S.L.M.), 2008**- Edect of the fungi *Metarhizium* (METSCH) SOROK. And *Beauveria bassiana* (BALS) VUILL on *Tuta absoluta* (Meyrick) and their compatibility with insecticides : These apresentada ao programa de Pos-graduacao em Entomolgia Agricola, de

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Universidade Federal Rural de pernambuco, como parte dos requisito para obtencao de grau de Doutor em Entomologia Agricola. Recife- Pe e Feveiro, 72p.

-Pitrat Michel et Foury Claude, 2003 – Histoires de légumes : Des origines à l'orée du XXIe siècle ; Institut national de la recherche agronomique (France) ; Puplicé par Edition Quae, 2003 ; ISBN 2738010660, 9782738010667 : 410p.

-Ponce (A.G.), Fritz (R.), Del Valle (C.) et Roura (S.I.), 2000 – Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic.* 36 :679-684.

-Pratisoli (D.) et Parra (J.R.P.), 2000 – Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym : Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* and *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera : Gelechiidae) at different temperatures. ISSN 0931-2048.J.Appl. Ent. 124 : 339-342.

-Pujadassava (A J.), 2003-*Daucus L. in flora iberica. Araliaceae-Umbelliferae. Real Jardin Botanico de Madrid.* 10 :9 7-125.

-Qaralleh (H.N.), Abboud (M.), Khleifat (K.), Atarawneh (K.), Althunibat (O.), 2009-Antibacterial activity in vitro of *Thymus capitatus* from Jordan. *Pak. J. Pharm. Sci., Vol.22, No.3, July 2009, pp.247-251.*

-Quezel (P.), Santa (S.), Schotter (O.), 1962 - *Nouvelle flore de l'Algerie et des régions desertiques meridionales.* Paris.

-Quezel (P.), Santa (S.), 1963- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Edition du Centre Nationale de la Recherche Scientifique. Paris.

-Ramel, 2010 – *Tuta absoluta* Meyrick (1917). Element de reconnaissance. INPV Montpellier. Station d'entomologie 2p.

-Rasooli (I.), Abyaneh (MR.), 2004- Inhibitory effect of thyme oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Food Control.* 15 : 479-483.

- Rasooli (I.), Rezaei (M.B.), Allameh (A.), 2006 - Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. *Food Control* 17, 359–364.

-Raza (SA.), Rehman (A.), Adnan (A.), Qureshi (F.), 2009- Comparaison of antioxydant activity of essential oil of *Centelle asiatica* and Butylated hydroxynisole in sunflower oil at ambient connditions. *Biharean Bilo.* 3 :71-75.

-Razuri (V.) et Vergas (E.), 1975- Biologia y comortamento de *Scrobipalpula absoluta* Meyrick (Lepidoptera, Gelechiidae) en tomater. *Revista Peruana de Entomologia, V18 (n°1) :* 84-89.

-Regnault-Roger (C.) & Philogene (B.), 2008 - Past and Current Prospects for the Use of Botanicals and Plant Allelochemicals in Integrated Pest Management. *Pharmaceutical Biology, Vol. 46, No. 1-2, Pages 41-52.*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Reichenbach (H.), 1989** - Order I. Cytophagales Leadbetter 1974, 99AL, p. 2011-2013. In J. T. Staley, M. P. Bryant, N. Pfennig, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 3. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Rekad (F.Z.), Guenaoui (Y.), Corbière (R.) et Andrivon (D.), 2010b** – Le mildiou de la pomme de terre et de la tomate en Algérie 2^{ème} colloque internationale en biotechnologie Oran/Algérie, 26-29 avr 2010, Dép Biotechnologie. Faculté des sciences, Université d'Oran.
- Rey et Costes, 1965** – La physiologie de la tomate. Ed. INRA, Paris 1965.
- Romagnoli (C.), Bruni (R.), Andreotti (E.), Rai (M.K.), Vicentini (C.B.), Mares (D.), 2005** - Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma* 225, 57–65.
- Rosenthal (E.), Marty (P.), Ferrero (C.), Le Fichoux (Y.), Cassuto (j.p.), 2000**- Infection à *Penicillium marneffei* chez un patient infecté par le HIV. *Press Med*, 29 : 363-364.
- Rota (C.), Carraminana (J.J.), Burillo (J.), Herrera (A.), 2004** - *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of Food Protection*, 67: 1252–1256.
- Ruberto (G.), Biondi (D.), Piatelli (M.), 2000**- The essential oil of Sicilian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link. *J. Essent Oil Res.* 4, 417- 418.
- Russo (M.), Galletti (G.C.), Bocchini (P.) & Carnacini (A.), 1998**- Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link)): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3741-3746.
- Saettel (L.L.), 2000** – Valeur nutritionnelle de la tomate. Diététicienne diplômée d'état. Copyright L. Livernais-Saettel 2000 site www.dietobio.com. Date de consultation 15/01/2010.
- **Saez (F.), 1998** - Variability in essential oils from populations of *Thymus hyemalis* Lange in southeastern Spain. *J. Herbs Spices Med. Plants*, 5, 65-76.
- **Sahin (F.), Gulluce (M.), Daferera (D.), Sokmen (A.), Sokmen (M.), Agar (G.) and Ozer (H.), 2004** - Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *Vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15: 549-557.
- Samapundo (S.), Heyndrickx (M.), Xhaferi (R.) et Devlieghere (F.), 2011**- Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. *International Journal of Food Microbiology* 150, 34–41.
- **Santos (DA.), Hamdan (JS.), 2005** - Evaluation of broth microdilution antifungal susceptibility testing conditions for *Trichophyton rubrum*. *J Clin Microbiol.* Apr;43(4):1917-20.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sassella (A.), De Piazza (D.), Pedro li (M.), Contia. & Rey (Ch.), 2008** - Comparaison de quatre varietes de sauge officinale au Tessin. *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.* Vol. 40 (2):101-104.
- **Sato (K.), Sugawara (A.K.), Takeuchi (A.H.), Park (A.H.), Akiyama (B.T.), Koyama (B.T.), Aoyagi (B.Y.), Takeya (A.K.), Tsugane (A.T.) and Shimurac (C.S.), 2008** - *Antibacterial Novel Phenolic Diterpenes from Podocarpus.*
- **Satrani (B.) et al., 2008.** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, 85-96.
- Schiffer (B.), 2003-** Itinéraire technique tomate cerise, programme initiative pesticides. Gembloux, P31 Faculté niversitaire des sciences agronomiques UG/PIP COLEACP, Rue du Trone, 98B-1050 Bruxelle (Belgique), 32p.
- **Scora (K.M.), Scora (R.W.), 1998** - Effect of volatiles on mycelium growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, and *P. ulaiense*. - *J. Basic Microbiol.*,**38**(5-6), 405-413.
- **Scott (IM.), Jensen (H.), Scott (JG.), Isman (MB.), Arnason (JT.) & Philogène (BJR.), (2003)** - Botanical insecticides for controlling agricultural pests: Piperamides and the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Arch. Insect Bioch. Physio.* 54, p. 212–225.
- **Segers (P.), Vandamme (P.), Steyn (P.L.), Mannheim (W.), Willekens (H.), Bauwens (M.), De Ley (D.) et Kerster (K.), 1993** - Phylogenetic studies of *Flavobacterium* and related organisms by DNA-rRNA hybridizations. In *Advances in the Taxonomy and Significance of Flavobacterium, Cytophaga and Related Bacteria. Edited by P. J. Jooste. Bloemfontein, South Africa: University of the Orange Free State Press: 129-136.*
- **Segvic-Klaric (M.), Kosalec (I.), Mastelic (J.), Pieckova (E.), Pepelinak (S.), 2006** - Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology* 44, 36–42.
- Senatore (F.), 1996-** Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymuspulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1327-1332.
- Silva (S.S.), 2008-** Fatores biologia reproductiva que influenciam o manejo comportamental de *Tuta absoluta* (Meyrick) ; 2008, Reproductive biology factors influencing the behavioural management of *Tuta absoluta* ; dissertacao apresentada ao programa de posGraduacao em Entomologia Agricola da universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisistes para obtencao do grau de mestre em Entomologia Agricola : RECIFE-PE Fevereiro-2008.75p.
- Siqueira (H.A.A.), Guedes (R.N.C.), Fragoso (D.B.) et L Magalhaes (C.), 2001** – Abamectin resistance and synergism in Brazillian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae), *International Journal of Pest Management.* ISSN 0967-08774. 47 (4) : 247-251.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Sivropoulou (A.) et al., 1996** - Antimicrobial and cytotoxic activities of organum essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1202-1205.
- Skandamis (P.N.) et Nychas (G.J.E.), 2001** – Effect of organo essential oil on microbiological and physico-Chemical attribues of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of applied Microbiology*.91 : 1011-1022.
- Smith, (I.M.), Dunez (D.H.) Phillips (R.A.) Lelliott (S.A.), Archer (EDS.), 1988**- European.
- Smith-Palmer (A.), Stewart (J.) et Fyfe (L.), 2001** – The potential application of plant essential oil as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18 : 463-470.
- Smith (E.C.J.), Kaatz (G.W.), Seo (S.M.), Wareham (N.), Williamson (E.M.), and Gibbons (S.), 2007** - *The Phenolic Diterpene Totarol Inhibits Multidrug Efflux Pump Activity in Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 4480-4483.
- Souza (J.C.) et Reis (P.R.), 2000**- Traça-do-tomateiro em Minas Gerais. *Pesq Agropec. Bras* ; 21 : 343-354.
- **Soylu (E.M.), Yiğitbaş (H.), Tok (F.M.), Soylu (S.), Kurt (S.), Baysal (Ö.), Kaya (A.D.), 2005** - Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection* 112, 229–239.
- Soylu (E.M.), Soylu (S.), Kurt (S.), 2006**- Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia* 161, 119–128.
- Soylu (S.), Yigitbas (H.), Soylu (E.M.), Kurt (S.), 2007**- Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia Sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*.
- **Soylu (S.), Soylu (E.M.), Kurt (S.), 2010** – In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology* 143 : 183-189.
- Stol (W.), Griepinket (FC.), Deventer (PV.), 2009**- *Tuta absoluta* : a new pest for tomato growing in Europe. *Plant Research International PHEROBANK*, Wageningen Holanda. 2 nd conference on pheromones, food lure, trapsand biological control : Alternatives for the 21th century, Murcia, Spain.9p.
- Suinaga (F.A.), Casali (V.W.D.), Picanço (M.) et Foster (J.), 2004** – Genetic divergence among tomato leafminer populations based on AFLP analisis pesq. *Agropec, Bras, Brasillia*, Volume 39N° 7 :645-651.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Tail (G.) & Doumandji-Mitiche (B.), 2006** - Effet acridifuge des plantes *Melia azedarach*, *Nerium oleander* et *Inula viscosa* et de leurs extraits sur le comportement alimentaire du criquet pelerin *Shistocerca gregaria*. Résumés de la VI eme conference international d'entomologie, 2-6 juillet 2006, 99p.
- Takahashi (H.), Kamimura (H.), Ichinoi (M.), 2004**- Distribution of aflatoxin-Producing *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in Sugarcane Fields in the Southernmost Islands of Japan. *J. Food Prot.* 67 : 90-95.
- Tawaha (K.A.), Hudaib (M.M.), 2012**- Chemical composition of the essential oil from flowers, flower buds and leaves of *Thymus capitatus* Hoffmanns. & Link from Jordan. *J. Essent Oil Bear Pl.* 15, 988-996.
- Tchoumboungang (F.), Jazet Dongmo (P.M.), Sameza (M.L.), Gaby Nkouaya Mbanjo (B.), Tiako Fotso(G.), Amvam Zollo (P.) , Menut (C.), (2009)** - Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1), 77-84.
- Teusher (E.), Anton (R.) et Lobstein (A.), 2005** – Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiment et huiles essentielles. Tec et Doc, Paris : 522.
- **Tinthoin (R.), 1948** – Les aspects physiques du l’Oranais. Essais de Morphologie du pays semi-aride de Fougue ed.Oran : 618p.
- Thomas (S.C.), Li, 2008**- Vegetables and fruits : nutritional and therapeutic values. CRC Press : Taylo et Francis Group, LLC, ISBN 978-1-4200-6871-9 : 298p.
- Thompson (J.D.) et al., 2003**- Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotype. *J. Chem. Ecol.*, 29(4), 859-880.
- Torres (J.B.), Farcia (C.A.), Evangelista (W.S.), Pratisoli (D.), 2001**- Within-plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immatures in processing tomatoes, with notes on plant phenolgy. DEPA-EBTOMOLOGY Unit, federal Rural University of Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros S/N, Recife52171-900 Recife, PE, Brazil *International Journal of Pest Management*, 2001, 47(3).173p.
- Torres (J.B.), Evangelista (W.S.), Barras (R.), Guedes (R.N.C.), 2002**- Dispersal of *Podisus nigrispinus* (Het, Pentatomidae) nymphs preying on tomato leafminer : effect of predator release time, density and satiation level. DEPA-Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil *Blackwell Verlag, Berlin. J. Appl Ent.*126p.326-332.
- Touayli (J.), 2002** - *Valorisation des sous-produits du thuya de Berbérie (Tetraclinis articulata Vahl) du Maroc.* - Mémoire 3^e Cycle Inst. Agron. Véter. Hassan II, Rabat, Maroc, 90 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Toumi (B.F.), Benyahia(M.), Hamel (L.), Mohamedi (H.), Boudaghen, (L.), 2011-** Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters originaire d'Algérie. *Acta Bot Gallica* 158, 93-100.
- **Tripathi (A.), Neeta Sharma (N.), Sharma (V.), 2009-** In vitro efficacy of *Hyptis suaveolens* L. (Poit.) essential oil on growth and morphogenesis of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Massey) Snyder & Hansen. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*.
- **Trombetta (D.) et al., 2005** - Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49(6), 2474-2478.
- **Trombetta (D.) et al., 2002** - Study on the mechanisms of the antibacterial action of some plant, β -unsaturated aldehydes. *Lett. Appl. Microbiol.*, 35, 285-290.
- **Tumen (G.), Baser (K.H.C.), Demirci (B.) et Ermin (N.), 1998** -The essential oils of *Satureja coerulea* Janka and *Thymus aznavourii* Velen. *Flavour Fragrance J.*, 13(1), 65-67.
- **Tzortzakis (N.), 2009** - Impact of cinnamon oil enrichment on microbial spoilage of fresh.
- **Uldahl (S.A.), Knutsen (G.), 2009** – Spore swelling and germination as a bioassay for the rapid screening of crude biological extracts for antifungal activity. *Journal of Microbiological Methods* 79 : 82-88.
- **Unesco, 1963** – Carte bioclimatique de la région Méditerranéenne. Recherche sur les zones arides XXINS. Publiée par l'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, Paris-7^{ème} et par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Viale dell Terme di Caracalla, Rome Imprimé par Firmin- Didot, Mesnil-sur-l'Estrée (Eure) : 59p.
- Urbaneja (A.), Monton (H.) et Molla (O.), 2008** – Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. Unidad de Entomologia, Centro de Protección Vegetal y biotecnología Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Valencia Spain. *Journal Compilation*, 2008. Blackwell Verlag, Berlin : 1-5.
- Urbaneja (A.), Vercher (R.), Navarro (V.), Mari (F.G.) et Percuna (J.I.), 2007-** La pollilla del tomate, *Tuta absoluta*. Centro Protección Vegetal y biotecnología (IVIA). Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Valencia. Espagne. *Hortícolas. Phytoma. España*, n°194 Déc 2007 : 16-23.
- Van erk (J.), Kirk (D.D.), Walmsley (A.M.), 2006-** *Agrobacterium* protocols : Second Edition Volume 1. Edited by Kan Wang. ISBN 1-58829-536-2. Humana Press Inc. 507p.
- Van Loon (L.C.), 2007** - Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 243-254.
- Vansuyt (G.), Souche (G.), Straczek (A.), Briat (J.F.) et Jaillard (B.), 2003** - Flux of protons released by wild type and ferritin over-expressor tobacco plants: effect of phosphorus and iron nutrition. *Plant Phys. Biochem.* 41: 27-33.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Vargas (H.), 1970** – Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lep : Gelechiidae). *IDESIA* 1 : 75-110.
- **Vila (R.) et al., 1995**. Composition and study of the variability of the essential oil of *Thymus funkii* Cosson. *Flavour Fragrance J.*, 10, 379-383.
- Vilela De Ressend (J.T.), 2003**- Resistencia a atropos-paragas, mediada por acilglucosidos em tomateiro obtido do cruzamento interspecifico de *Lycopersicon esculentum* Mill TOM-584 XL. Pennellii LA 716 Lavras Minas Gerais- Brasil, 104p.
- Wang (Y.H.), Garvin (D.F.), Kochian (L.V.), 1998** – Nitrate induced genes in tomato roots. Array analysis reveals novel genes that may play a role in nitrogen nutrition. *Plant Physiol.* 127 (1) : 345-359.
- Warlop (F.), 2006** - Limitation des populations des ravageurs de l'olivier par le recours a la lutte biologique par conservation. *Cahiers Agricultures* vol. 15, n° 5, septembre-octobre, 449-455.
- Weller (D.M.), Raaijmakers (J.M.), McSpadden-Gardener (B B.) et Thomashow (L S.), 2002**- Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 309–348.
- Weller (D.M.), Landa (B.B.), Mavrodi (O.V.), Schroeder (K.L.), de la Fuente (L.), Blouin-Bankhead (S.B.), Allende-Molar (R.), Bonsall (R.F.), Mavrodi (D.V.) et Thomashow (L.S.), 2007** - Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. *Plant Biol.* 9: 4-20.
- Whipps (J.M.), 2001**- Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52: 487-511.
- **Woese (C. R.), Stackebrandt (E.), Macke (T.J.) et Fox (G.E.), 1985** - A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Syst. Appl. Microbiol.* 6: 143-51.
- **Woese (C. R.), Mandelco (L.), Yang (D.) Gherna (R.) et Madigan (M.T.), 1990** – The case for relationship of the *flavobacteria* and their relatives to the green sulfur bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 13: 258-262.
- **Zambonelli (A.), D'Aulerio (A.Z.), Severi (A.), Benvenuti (S.), Maggi (L.), Bianchi (A.), 2004**- Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. *Journal of Essential Oil Research* 16, 69.
- **Zarins (I.), Daugavietis (M.) & Halimona (J.), 2009** - Biological activity of plant extracts and their application as ecologically harmless biopesticide. *Scientific works of the lithuanian institute of horticulture and lithuanian university of agriculture.* sodininkyste it dar2ininkyst, 28(3).
- **Zhao (L.), Yany (X.), Li (X.), Mu (W.), Liu (F.), 2011** - Antifungal, insecticidal and herbicidal properties of volatile components from *Paenibacillus polymyxa* strain BMP-11, *Agric. Sci. China* 10 (2011) 728–736.
- Zhiri (A.), 2006**- Aromatherapie. *Natranuws*. Ed : Fondation libre choix : 2-16.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., and Benjelloun W. (1997), *Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco*, J. Ethnopharmacol., 58, 45-54.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXES

Tableau 1 : Moyennes mensuelles des précipitations en (mm) durant la période 2003-2013 de la station Zennata (ONM).

Année	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	<u>Juil</u>	<u>Aou</u>	Sep	Oct	Nov	Dec
2003	78	79	79	19.3	17	2.4	1.6	0	8.8	64	48	100.5
2004	53.7	28.8	28.8	27.3	53.5	8.8	0.7	2.4	8.6	33	48	76
2005	22.1	55.38	49.02	12.96	0.51	0.76	0	0	25.1	5	5.08	6.61
2006	37.6	53.33	22.35	8.12	24.39	3.05	0.51	3.05	18.0	13	8.63	35.05
2007	16.76	21.09	33.78	92.2	4.06	0	0	0.76	11.9	55	58.1	8.12
2008	18.03	27.18	16.76	13.21	33.02	2.54	0	0	32.2	107	73.6	104.66
2009	111.2	44.2	19.81	44.46	6.1	2.04	0	0	91.49	2.0	12.4	40.41
2010	55.63	36.83	69.09	28.19	17.53	14.48	0.51	14.73	5.58	61	24.3	42.43
2011	26,16	30,98	38,6	62,23	58,42	27,69	0	3,05	3,05	47,24	69,08	28,96
2012	20,57	43,69	23,11	32,27	8,89	1,02	4,06	0	36,83	36,07	132,86	19,81
2013	100,07	39,12	65,53	66,82	46,47	60,2	0,76	0,5	18,29	0	52,58	84,1
Moyennes	49,07	41,96	40,53	37	24,53	11,18	0,74	2,22	23,62	38,48	50,87	49,69

ANNEXES

ANNEXES

Tableau 2 : Moyennes mensuelles des températures enregistrées en (°C) pendant la période 2003 à 2013 de la station Zenata (O.N.M.).

Année	Jan	fev	Mar	Avr	Mai	Jui	<u>Juil</u>	<u>Aou</u>	Sep	Oct	Nov	Dec
2003	9.7	10.4	13.9	15	18.8	24.4	26.8	27	22.6	18.7	15.4	12.9
2004	11.2	12.2	12.5	14.3	16.7	23	26.2	27	23.9	19.3	14.4	11.3
2005	7.3	8.3	12.8	14.9	20	23.4	26.1	26	22.1	19.5	17.2	10.7
2006	9.3	10.5	14.2	17	20.1	22.4	27.1	26.1	23	20.7	16.5	11.4
2007	10.4	13.3	12.7	14.4	19.1	22.2	25.5	25.9	22.7	18.6	13.6	10.6
2008	11	12.3	13.7	16.9	18	22.7	26.5	26.6	23.4	19.3	12.4	9.7
2009	10.3	10.6	13	14.4	19.5	23.8	27.6	25.9	22.1	20	16.9	13.8
2010	12.1	13.6	13.7	16.3	18.7	22.2	26.6	27	23.7	18.3	14.2	12.2
2011	11,3	12	12,8	13	12,1	14	14	13,5	12,9	13,7	11,2	12,5
2012	13	11,8	11,9	11,6	15,4	13,4	13,2	15,2	13,4	11,8	8	11,5
2013	10,2	11,3	11,5	11	13,3	14,7	14,7	13,8	12,6	14,5	12,53	11,5
Moyennes	10,52	11,48	12,97	14,43	17,42	20,56	19,65	23,09	20,21	17,67	13,84	11,64

ANNEXES

ANNEXES

Tableau 3 : Résultats des élevages durant la période d'étude

Sortie	oeuf	L1	L2	L3	L4	Chrysalide	Adulte	Sex-ratio
1	1	6	3	5	13	1	1	1M
2	3	8	5	12	10	6	5	3F/2M
3	2	5	6	6	12	8	12	7F/5M
4	5	10	8	10	11	4	10	9F/1M
5	3	4	7	11	12	9	8	5F/3M
6	4	7	14	12	10	13	8	4F/4M
7	5	10	15	14	12	15	14	9F/5M
8	3	13	17	15	20	11	10	4F/4M
9	2	21	16	18	15	10	8	6F/2M
10	1	17	12	8	14	15	12	6F/6M
11	9	23	14	18	16	11	9	8F/1M
12	6	10	13	18	19	15	13	7F/6M

ANNEXES

ANNEXES

Tableau 4 : Résultats de l'analyse de variance globale des effets de l'huile et de l'hydrolat sur la population larvaire de *T.absoluta*.

Plantes	Somme	Moyenne	Variance	Probabilité
<i>T.capitatus</i>	34	2,833333333	2,333333333	0,00582788
<i>T.articulata</i>	32	2,666666667	1,51515152	0,00421969
<i>T.capitatus/T.articulata</i>	122	3,38888889	1,73015873	0,99999977
<i>T.capitatus/Larves</i>	30,5	3,38888889	1,4375	0,03023637
<i>T.articulata/Larves</i>	30,5	3,38888889	1,19444444	0,00906957

ANNEXES

ANNEXES

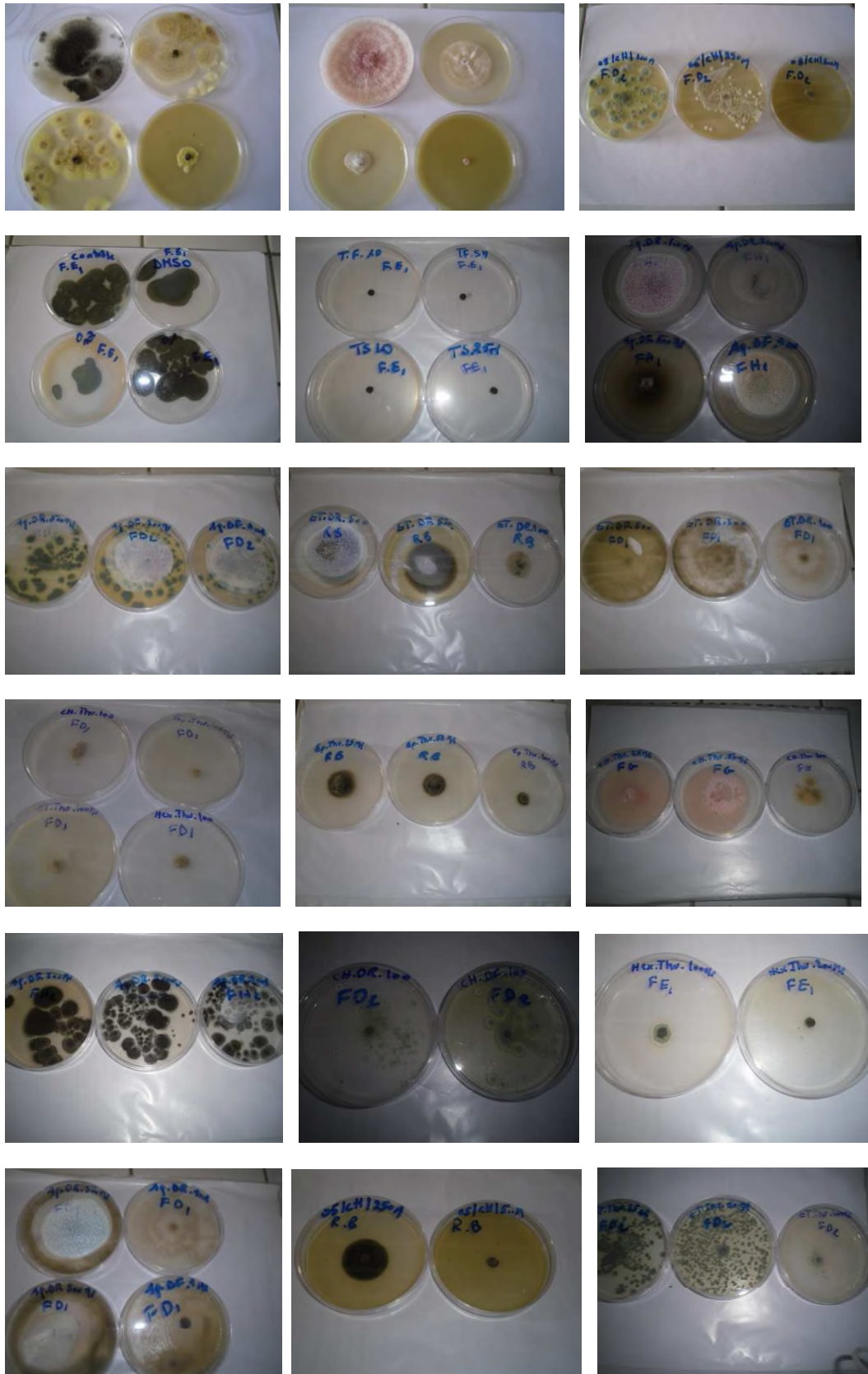
1. Photos de l'activité insecticide par les huiles et les hydrolats



ANNEXES

ANNEXES

2. Photos de l'activité antifongique « in vitro » par les huiles et les extraits



ANNEXES

ANNEXES

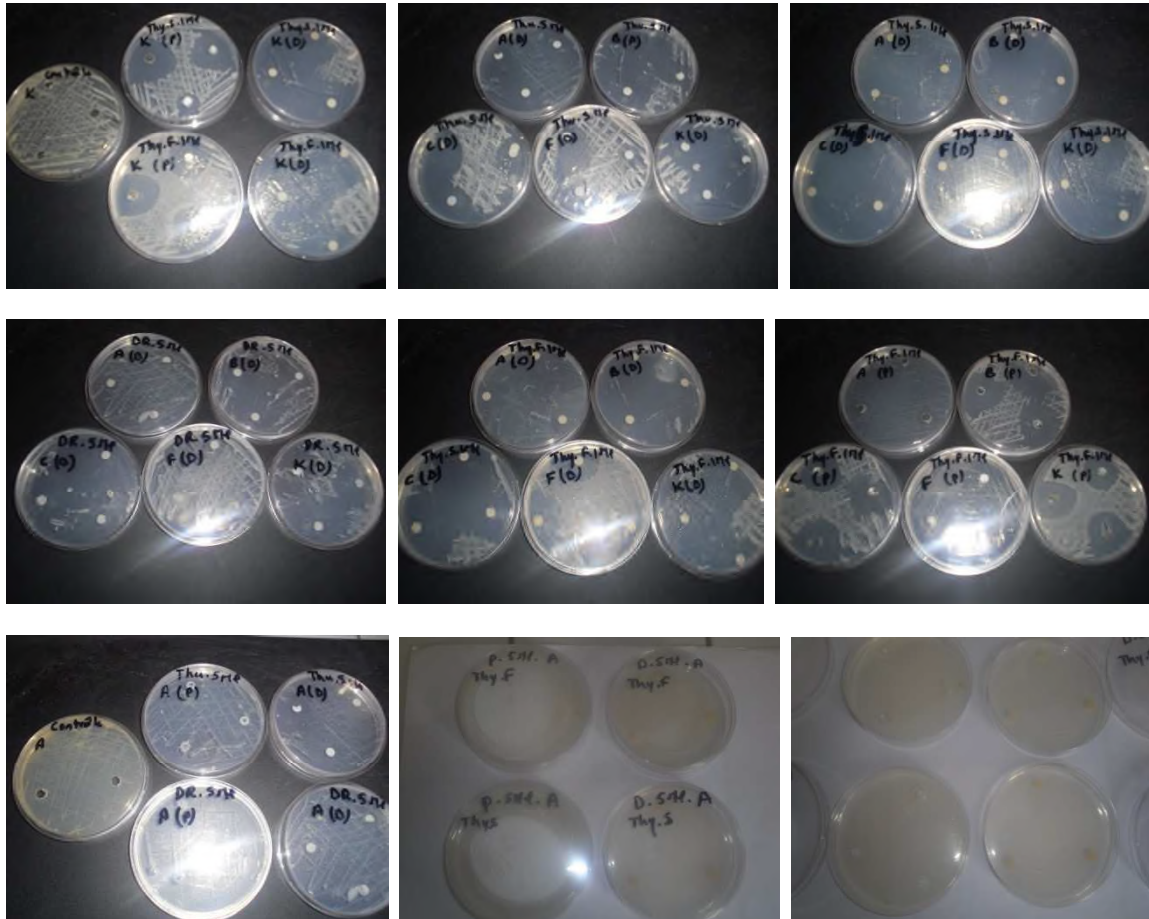
3. Photos de l'activité antifongique « in vivo » par les hydrolats



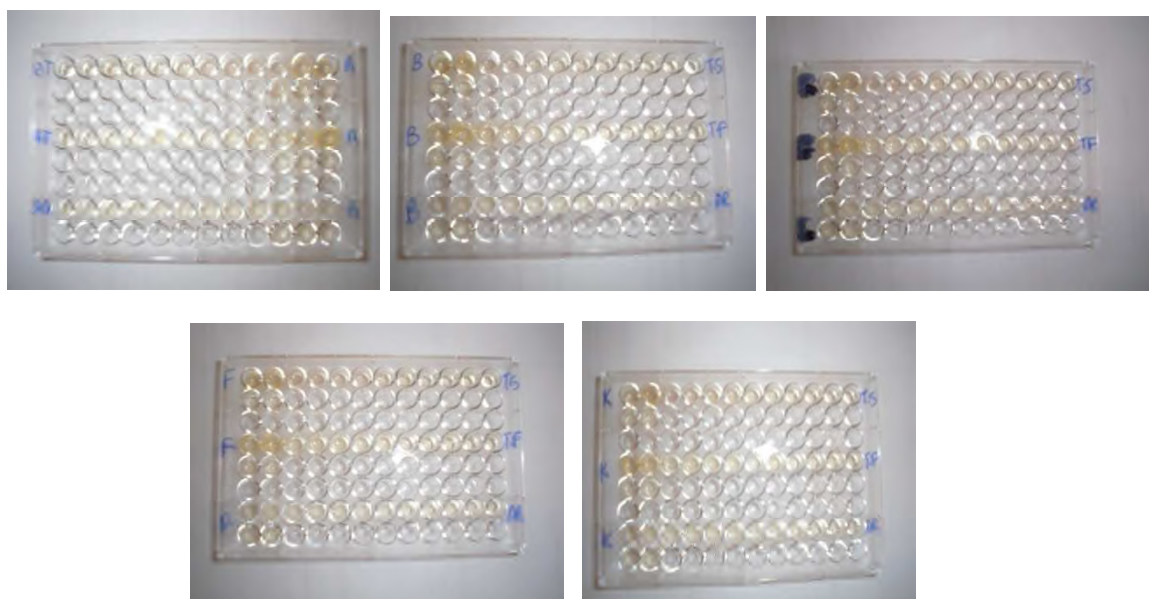
ANNEXES

ANNEXES

4. Photos de l'activité antibactérienne des huiles par méthode de disque



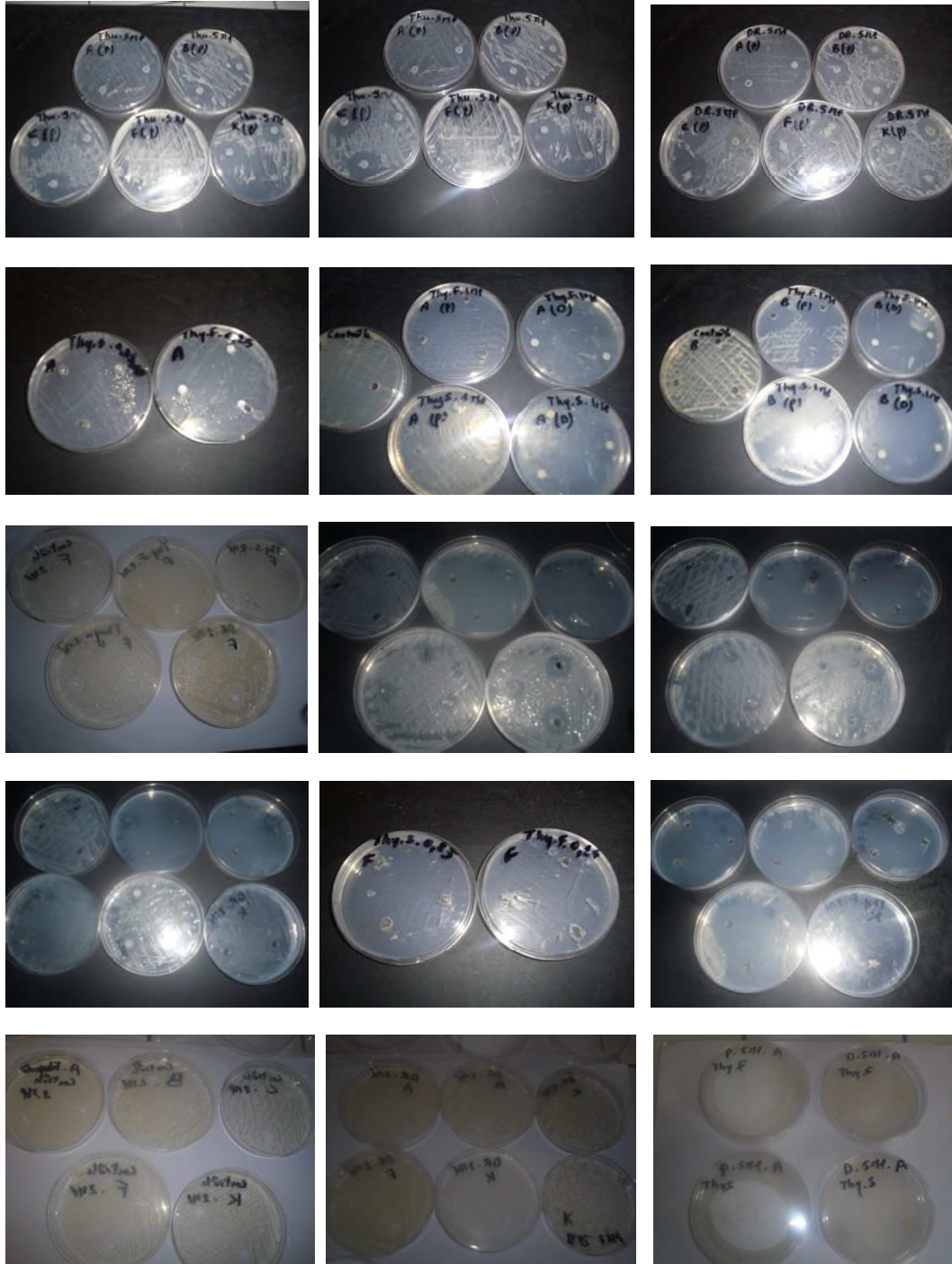
5. Photos des CMI des huiles essentielles



ANNEXES

ANNEXES



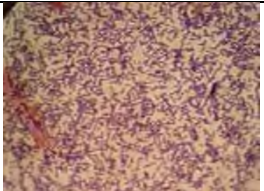
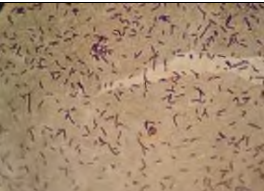

6. Photos de l'activité antibactérienne par la méthode de puits



ANNEXES

Collection de Mme : Bouayad alam Samira

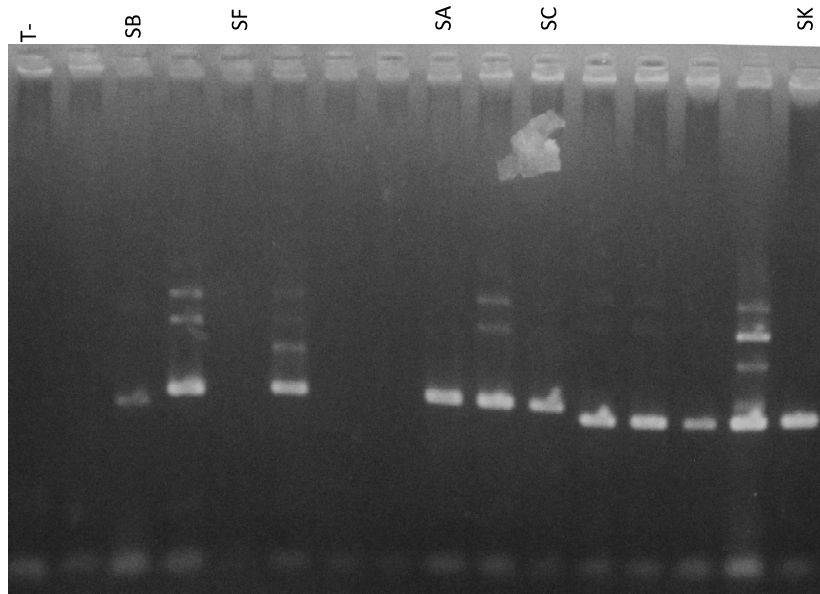
Nombre des souches 5 : les résultats obtenus sont dressés dans ce tableau :

Strain code	Domain	Its analysis	16Sanalysis	Gram color
S C	Bacteria	yes	yes	 Gram +
S A	Bacteria	yes	yes	 Gram -
S K	Bacteria	yes	yes	 Gram -
S F	Bacteria	yes	yes	 Gram -
S B	Bacteria	yes	yes	 Gram -

ANNEXES

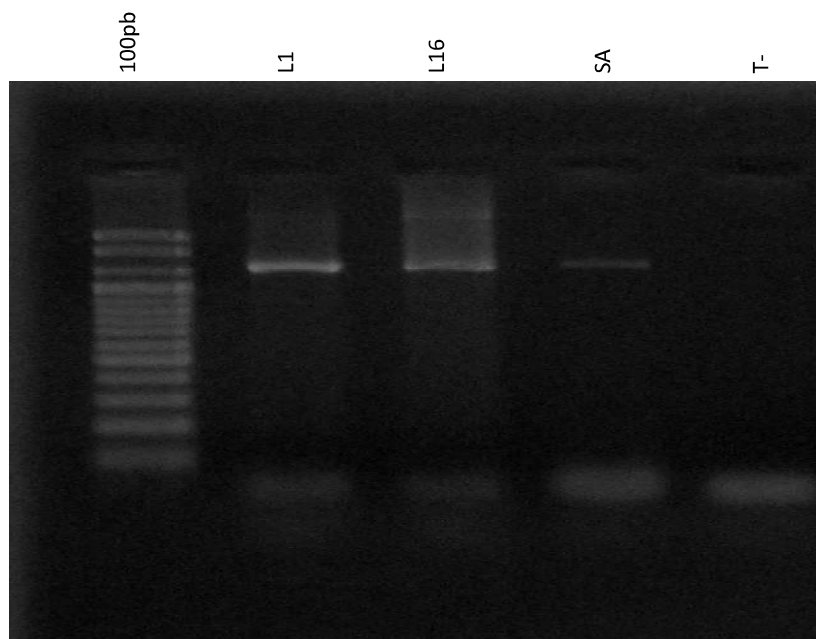
Le profil ITS : 20/06/13

Gel d'agarose 1%



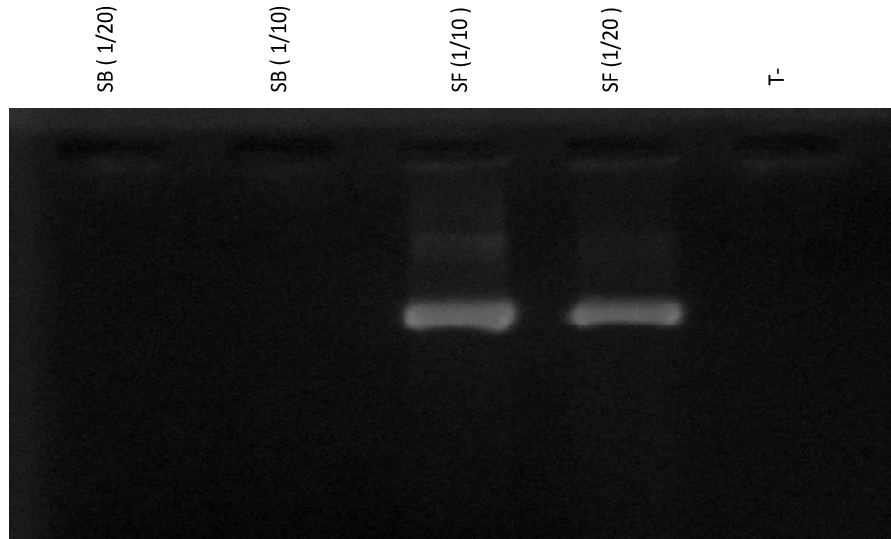
PCR 16S :03/07/13

Gel d'agarose 1.5%

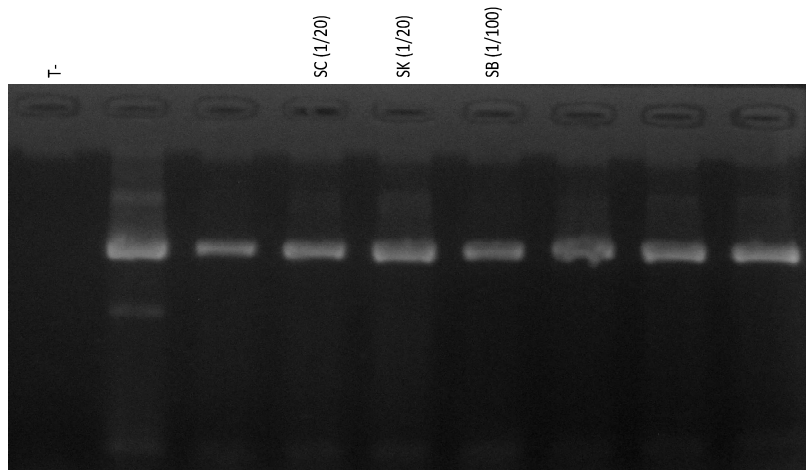


ANNEXES

Gel de PCR 16S avec dilution 09/07/13



Gel de PCR 16S avec dilution : 10/07/13



ملخص

يهدف هذا البحث إلى اقتراح حلول بديلة على أساس استعمال المواد الطبيعية "المبيدات الحشرية الطبيعية" من أجل مكافحة حفار أوراق البندورة *Tuta absoluta* (Meyrick)، و أعوان مرضية أخرى معتبرة كخطر أكيد على إنتاج الطماطم بالجزائر. سمحت لنا دراسة الدورة البيولوجية للحشرة من معرفة فترات لمراحل النمو و نسبة الوفيات لمختلف مراحل النمو متوافقة مع التاريخ و كذلك نسبة جنسية عند مكان الدراسة. الاختبارات التسممية للزيوت الطبيعية و الحلاله المائية للنباتات الثلاثة المدروسة بينت نسبة وفيات بلغت 80% لكل من L2 و L3 عند التركيز 5 مكرولتر و قدرت ب 100% وفيات ل L1 باستعمال *T. capitatus* أو *T. articulata*. تكشف النتائج عن أن الزيت الطبيعي لـ *T. capitatus* يشكل نشاط مبيد حشري، مضاد للفطريات و للجراثيم الأكثر أهمية (كبت كلي بنسبة 100 % بالنسبة للغزل الفطري مع تركيز بنسبة 2µG/ml. الزيت الطبيعي لـ *T. articulata* له مفعول كيتي للغزل الفطري يفوق 41 % مع تركيز بنسبة 2 ميكروغرام/مل. الزيت الطبيعي لـ *D. crinitus* هو الذي يتمتع بأقل نسبة (22 %) بنفس التركيز. إن الحلاله المائية لـ *T. articulata* هي الأكثر فعالية على سلالات *Trichoderma sp.*, *A. solani* و *F. oxysporum* البنسليوم sp2. لكن الحلاله المائية لـ *T. capitatus* مارس نشاطا رائعا كيتيا على ثلاثة مسببات مرضية: *Trichoderma sp.*, *F. oxysporum* و *Penicillium sp1* التي كانت أكثر حساسية

الكلمات المفتاح: حفار أوراق البندورة، زيت طبيعي، نشاط مضاد للحشرات، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضاد للبكتيريا، مقاومة بيولوجية.

Abstract

This study aims to propose alternative solutions based on the use of natural products "biopesticides" to fight against the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) and other pathogens considered as serious threat for tomato production in Algeria.

The study of the biological cycle of the insect depending to mean duration of days developmental stages and mortality rate of various stages recorded to times and a sex ratio in our contry.

The tests of toxicity by oils and hydrosol for three plants allowed us to estimate the mortality rate that exceeded 80% for larvae L2 and L3 with concentration 5µL, and reach 100% mortality of larvae L1 by effet of both plant *T. capitatus* or *T. articulata*.

The results show that the essential oil of *T. capitatus* present the most important insecticidal, antifungal and antibacterial activity (total inhibition of 100% of mycelium in concentration with a 2µG / ml). The essential oil of *T. articulata* mycelium presents inhibitory effect more than 41% with a concentration of 2µg / ml. The essential oil of *D. crinitus* have the lowest activity with (22%) for the same concentration. The hydrosol *T. articulata* is more active on *F. oxysporum* strains of *A. solani* and *Penicillium sp2*. However, the hydrosol *T. capitatus* has a remarkable inhibitory activity on three pathogens: *Trichoderma sp F. oxysporum Penicillium sp1* and who were the most sensitive.

Keywords : *Tuta absoluta*, essential oil, insecticidal, antifungal, antibacterial, biological control.

Résumé

La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels «bioinsecticides», afin de lutter contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), ainsi que d'autres agents pathogènes considérés comme une menace sérieuse pour la production de la tomate en Algérie.

L'étude du cycle biologique de l'insecte a permis de connaître les durées de développement et les taux de mortalité des différents stades selon les dates ainsi que le sex-ratio au niveau de notre région.

Les tests de toxicité des huiles essentielles et hydrolats des trois plantes étudiées ont donné des taux de mortalité qui atteignent les 80% pour les larves L2 et L3 à une concentration de 5µL, allant jusqu'à 100% de mortalité pour les larves L1 que ce soit par l'effet *T. capitatus* ou *T. articulata*.

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *T. capitatus* présente l'activité insecticide, antifongique et antibactérienne la plus importante (inhibition totale de 100% pour le mycélium avec une concentration de 2µG/ml). L'huile essentielle de *T. articulata* présente un effet inhibiteur du mycélium dépassant 41% avec une concentration de 2µg/ml. L'huile essentielle de *D. crinitus* est celle dont l'activité est la plus faible (22%) pour la même concentration. L'hydrolat de *T. articulata* est plus actif sur les souches de *F. oxysporum*, *A. solani* et *Penicillium sp2*. En revanche, l'hydrolat de *T. capitatus* a exercé une remarquable activité inhibitrice sur trois agents pathogènes : *Trichoderma sp.*, *F. oxysporum* et *Penicillium sp1* qui sont les plus sensibles.

Mots clés : *Tuta absoluta*, huile essentielle, activité insecticide, activité antifongique, activité antibactérienne, lutte biologique.

¹Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et l'univers

²Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, Algérie

³Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, Corte, France

Antifungal activity of essential oils of three aromatic plants from western Algeria against five fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill)

S. Bouayad Alam¹, N. Gaouar Benyelles¹, M. El Amine Dib^{2*}, N. Djabou², L. Tabti¹, J. Paolini³, A. Muselli³, J. Costa³

(Received December 9, 2013)

Summary

The antifungal effect of the essential oils from *Thymus capitatus* L., *Daucus crinitus* Desf. and *Tetraclinis articulata* Vahl., aerial parts was evaluated in vitro against five phytopathogenic fungi of tomato (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2*). Our results showed that among the three plant species tested, *T. capitatus* oil was the most potent antifungal against the fungi (inhibition of mycelial growth of 100 % at a concentration of 2 µg mL⁻¹). Furthermore, the essential oil of *T. articulata* was also effective against *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2* with an inhibition of mycelial growth greater than 57 % at a concentration of 5 µg mL⁻¹. *D. crinitus* essential oil was less effective. *T. capitatus* essential oil was dominated by carvacrol (69.6 %) and p-cymene (12.4 %). The isochavicol isobutyrate (44.9 %) and isochavicol 2-methylbutyrate (9.7 %) were the major compounds in *D. crinitus* essential oil, while the most abundant compounds in *T. articulata* were α-pinene (32.0 %), cedrol (11.0 %) and 3-carene (9.6 %). The plant essential oils were found to be an effective antifungal against of mycelial growth and, therefore, can be exploited as an ideal treatment against disease rot of tomato or as a new potential source of natural additives for the food and/or pharmaceutical industries.

Introduction

Tomato (*Lycopersicon esculentum*) is an important commercial crop in the world. Nutritional values of tomato make it a widely accepted vegetable by consumers. Nevertheless, tomato is a very perishable vegetable with a short shelf-life and high susceptibility to fungal disease. Tomatoes are among the most popular fruits grown in Algeria. They are of an excellent quality and are greatly appreciated for their nutritional value. Furthermore, tomato production represents an important agricultural and economic activity in the country. The growing awareness of consumers concerning the relation between food and health is revolutionizing the food industry. Fungal pathogens are mainly responsible for the decay of fruits and vegetables during the postharvest period (PATHAK, 1997). *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* are responsible for spoilage of many foods and causes decay on stored fruits damaged by insects, animals, early splits, and mechanical harvesting. Apart from causing diseases in plants, many species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Alternaria* can also synthesize mycotoxins (AGRIOS, 1997; ROJAS et al., 2005). Considerable interest has developed on the preservation of foods by the use of essential oils to effectively retard growth and mycotoxin production. Essential oils and their main components possess a wide spectrum of biological activity, which may be of great importance in several fields, from food chemistry to pharmacology and pharmaceuticals (CRISTANI, 2007). The main aim of this work was to evaluate the antifungal properties of the essential oils of *T. capitatus*,

D. crinitus and *T. articulata* against phytopathogens that cause severe diseases in tomato, such as *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2*.

Materials and methods

Plant materials and essential oils extraction

Aerial parts of *D. crinitus* were collected in Bensekrane forest area (Tlemcen Province) at the flowering stage, in June 2011. The oil yield was 0.37 % (w/w). *T. capitatus* aerial parts were collected from Beni snous in Tlemcen city at the flowering stage, during June 2011 and yielded 0.52 % (w/w). *T. articulata* aerial parts were collected from Oujlida region, Tlemcen Province during June 2011 and yielded 0.31 % (w/w). The plant species were stored at -18 °C after harvest. A portion (550-600 g) of material from each plant species was subjected to a Clevenger-type apparatus according to the European Pharmacopoeia (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2004). The essential oils were dried over anhydrous sodium sulfate and, after filtration, stored in sterilized amber vials at 4 °C until it was used.

Gas chromatography

Analyses were carried out using a Perkin Elmer Clarus 600 GC apparatus equipped with a dual flame ionization detection system and 2 fused-silica capillary columns (60 m x 0.22 mm I.D., film thickness 0.25 µm), Rtx-1 (polydimethylsiloxane) and Rtx-Wax (polyethylene glycol). The oven temperature was programmed from 60 °C to 230 °C at 2 °C/min and then held isothermally at 230 °C for 35 min. Injector and detector temperatures were maintained at 280 °C. Essential oils were injected in the split mode (1/50), using helium as the carrier gas (1 mL/min); the injection volume was 0.2 µL. Retention indices (RI) of the compounds were determined from Perkin-Elmer software.

Gas chromatography-mass spectrometry

Essential oils were analyzed with a Perkin-Elmer TurboMass quadrupole analyzer, coupled to a Perkin-Elmer Autosystem XL, equipped with 2 fused-silica capillary columns and operated with the same GC conditions described above, except for a split of 1/80. Electronic Impact (EI) mass spectra were acquired under the following conditions: Ion source temperature 150 °C, energy ionization 70 eV, mass range 35-350 Da (scan time: 1 s).

Component identification

The identification of the components was based on a comparison: (i) between the calculated retention indices on the polar (RI p) and apolar (RI a) columns with those of pure standard authentic compounds and literature data (JENNINGS and SHIBAMOTO, 1980; KÖNIG et al., 2001; NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY,

* Corresponding author

2008); and (ii) of the mass spectra with those of our own library of authentic compounds and with those of a commercial library (MC LAFFERTY and STAUFFER, 1994; MC LAFFERTY and STAUFFER, 1988; NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 1999).

Component quantification

Quantification of the essential oil components was carried out using the methodology reported by COSTA et al. (2008), and modified as follows. The response factor (RF) of 29 standard compounds grouped into 7 chemical groups (monoterpene hydrocarbons, sesquiterpene hydrocarbons, alcohols, ketones, aldehydes, esters, and others) was measured using GC (ZNINI et al., 2011). RFs and calibration curves were determined by diluting each standard in hexane at 5 concentrations, containing tridecane (final concentration = 0.7 g/100 g) as an internal standard. Analysis of each standard was performed in triplicate. For the quantification of the essential oil components, tridecane (0.2 g/100 g) was added as internal standard to the essential oil. The correction factor (average of the response factors from standards) of each chemical group was calculated and used to determine the essential oil component concentration (g/100 g) according to the chemical group.

Pathogenic fungi

Fusarium oxysporum, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2* were isolated from naturally decayed tomato after storage of several weeks. These isolates were the most aggressive one in our collection and produced the largest lesions on inoculated fruit. A pure culture of these fungus were maintained on potato dextrose agar medium (PDA: potato 200, dextrose 20 g and agar 15 gL⁻¹ in distilled water at 25 °C) in the presence of a quantity of lactic acid (25 %) for stop the growth of bacteria. The plates were incubated at 25 ± 2 °C for 8 days and darkness. The developing fungal colonies were purified and identified up to the species level by microscopic examination through the help of the following references (BARNETT and HUNTER, 2006).

In vitro antifungal assay

The antifungal activity of the three essential oils was tested using radial growth technique (BAJPAI et al., 2007). Appropriate volumes of the stock solutions of the oils in dimethyl sulfoxide (DMSO) were added to PDA medium immediately before it was poured into the Petri dishes (9.0 cm diameter) at 40-45 °C to obtain two concentrations (2.0 and 5.0 µg mL⁻¹). Each concentration was tested in triplicate. Parallel controls were maintained with DMSO mixed with PDA. The discs of mycelial felt (0.5 cm diameter) of the plant pathogenic fungi, taken from 8-day-old cultures on PDA plates, were transferred aseptically to the centre of Petri dishes. Carbendazim was used as reference fungicide. The treatments were incubated at 27 °C in the dark. Colony growth diameter was measured after the fungal growth in the control treatments had completely covered the Petri dishes. Percentage of mycelial growth inhibition was calculated from the

formula: $(I\%) = [(DC-DT)/DC] \times 100$ (PANDEY et al., 1982);

where DC and DT are average diameters of fungal colony of control and treatment, respectively.

Statistical Analysis

The inhibitory effect of essential oils on mycelial growth was expressed as mean ± standard error of mean (S.E.M.) and analyzed for ANOVA and post hoc Dunnet's t-test. The separation of means

was done by using the least significant difference test at $p < 0.05$. Analysis of each test was performed in triplicate.

Results

Essential oils composition

A total of 26 components accounting to 99.5 % of the essential oil composition of *T. capitatus* were identified by comparison of their EI-mass spectra and their retention indices (RI) with those of our own authentic compound library (Tab. 1). The essential oil was highly dominated by oxygenated compounds (87.1%) with high amount of aromatic terpenic components (82.6 %). However, hydrocarbons appeared also in appreciable proportion (12.4%) which monoterpene hydrocarbons are well represented (10.7 %). Indeed, the main constituents of essential oil were carvacrol (69.6 %), p-cymene (12.4 %) followed by γ -terpinene (4.3 %), myrcene (2.1 %), α -terpinene (1.7 %), linalool (1.7 %) and terpinen-4-ol (1.1 %). These results were in accordance with those previously reported in literature (AMARTI et al., 2008; BOUNATIROU et al., 2007; RUBERTO et al., 2000; TAWAHA and HUDAIB, 2012). Other hand, various chemical profiles of essential oils (thymol, carvacrol or thymol/carvacrol as main components) have been reported according to geographical origins of *T. capitatus* (KAROUSO et al., 2005; MICELI et al., 2006). The analysis of the essential oil from the aerial parts of *D. crinitus* harvested in the forest of Bensekrane (Tlemcen) identified 30 components, which accounted for 91.3 % of the total composition. Their retention indices and relative percentages are shown in Tab. 1. The main components of the aerial parts oil were phenylpropanoids isochavicol esters, principally the isochavicol isobutyrate (44.9 %). The other major components identified were: isochavicol 2-methylbutyrate (9.7 %), pentadecane (5.1 %) and undecane (4.1 %) (Tab. 1). This result is in according with literature data (LANFRANCHI et al., 2010).

A total of 54 components accounting for 95.9 % of the total oil of *T. articulata* were identified (Tab. 1). The essential oils was highly dominated by the monoterpene hydrocarbons (63.8 %) followed by oxygenated sesquiterpenes (14.7 %) and sesquiterpene hydrocarbons (10.5 %). However, the oxygenated monoterpenes appeared in small proportion (6.4 %). The most abundant compounds were α -pinene (32.0 %), cedrol (11.0 %), 3-carene (9.6 %), limonene (4.3 %), sabinene (4.3 %) and (E)- β -caryophyllene (4.0 %). BEN JEMIA et al. (2013) have isolated and identified, by GC-MS, 66 constituents, the major constituents of the oil are: bornyl acetate (31.4 %), α -pinene (24.5 %) and camphor (20.3 %). while TOUMI et al. (2011) have identified, by GC/MS, more 45 compounds, with camphor(23.4-31.6 %), bornyl acetate (17,1-25,8 %), borneol (6.6-14,3 %), limonene (3,70-10,1 %) and α -pinene (6,5-11,3 %) were the major components of *T. articulata* essential oil. It was observed that the percentage of α -pinene (19.8-24.9 %) and bornyl acetate (40.2-59.2 %) for the leaves oils from two different sites in Algeria were the major constituents (CHIKHOUNE et al., 2013). In addition, the percentage of cedrol and 3-carene found in our essential oil was higher than cedrol and 3-carene in previous studies. Generally, the quality and quantity of components available in essential oils may be affected by several factors, such as plant genotype, geographical condition, season, and agronomic condition (GUMUS et al., 2010).

Antifungal activity of three essential oils against the development of fungi of tomato

The data presented in Tab. 2 show the antifungal activity of 3 plant species, belonging to 3 botanical families (Lamiaceae, Apiaceae and Cupressaceae), against *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2*. The effect of plant essential oils varied according to plant species. Indeed, 2 plant species out of 3 reduced

Tab. 1: Chemical compositions of aerial parts essential oils of *T. capitatus*, *D. crinitus* and *T. articulata*.

No. ^a	Components	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	<i>T. capitatus</i>	<i>D. crinitus</i>	<i>T. articulata</i>	Identification ^e
	Nonane	906	902	907	-	0.6	-	RI, MS
	α -Thujene	932	924	1028	0.2	-	tr	RI, MS
	α-Pinene	936	931	1028	0.9	0.5	32.0	RI, MS
	α -Fenchene	941	943	1039	-	-	0.6	RI, MS
	Camphene	950	945	1071	0.2	-	0.3	RI, MS
	Oct-1-en-3-ol	962	962	1441	0.5	-	-	RI, MS
	Sabinene	973	967	1122	-	0.6	4.3	RI, MS
	β -Pinene	978	972	1113	0.1	0.1	1.4	RI, MS
	Myrcene	987	982	1160	2.1	0.6	3.3	RI, MS
	α -Phellandrene	1002	999	1161	0.2	-	1.5	RI, MS
	3-Carene	1005	1006	1149	0.1	-	9.6	RI, MS
	α -Terpinene	1008	1011	1270	1.7	-	-	RI, MS
	<i>p</i>-Cymene	1015	1015	1270	12.4	0.2	0.5	RI, MS
	Limonene	1025	1023	1201	-	0.9	4.3	RI, MS
	β -Phellandrene	1023	1023	1209	-	-	1.4	RI, MS
	(E)- β -Ocimene	1041	1037	1247	-	0.6	0.7	RI, MS
	(Z)- β -Ocimene	1029	1022	1234	0.6	-	-	RI, MS
	γ -Terpinene	1051	1050	1245	4.3	1.6	0.7	RI, MS
	(E)-Sabinene hydrate	1051	1054	1445	0.1	-	0.2	RI, MS
	Nonanal	1076	1074	1403	-	0.1	-	RI, MS
	Terpinolene	1082	1079	1281	0.2	0.4	3.2	RI, MS
	(Z)-Sabinene hydrate	1087	1084	1537	-	-	0.8	RI, MS
	Linalool	1083	1085	1538	1.7	0.2	0.2	RI, MS
	Undecane	1100	1098	1101	-	4.1	-	RI, MS
	3-Octyl acetate	1113	1107	1330	-	-	0.2	RI, MS
	Veratol	1112	1113	1713	-	-	0.1	RI, MS
	Camphor	1123	1124	1506	0.1	-	-	RI, MS
	(Z)-Verbenol	1027	1128	1642	-	-	0.3	RI, MS
	Isoborneol	1143	1144	1670	0.5	-	-	RI, MS
	Borneol	1148	1150	1688	0.3	-	-	RI, MS
	Terpinen-4-ol	1164	1162	1591	1.1	0.1	2.0	RI, MS
	α -Terpineol	1176	1176	1690	0.1	-	0.1	RI, MS
	Octyl acetate	1188	1187	1460	-	2.3	-	RI, MS
	Decanal	1188	1187	1483	-	1.4	-	RI, MS
	Linalyl acetate	1239	1239	1552	-	-	0.2	RI, MS
	Decanol	1263	1259	1729	-	0.1	-	RI, MS
	Nonanoic acid	1263	1263	2119	-	0.1	-	RI, MS
	(E)-Anethole	1264	1261	1815	-	-	0.1	RI, MS
	Thymol	1266	1263	2181	0.6	-	-	RI, MS
	Bornyl acetate	1269	1269	1562	-	-	0.7	RI, MS
	Carvacrol	1278	1286	2193	69.6	-	-	RI, MS
	Eugenol	1330	1329	2164	0.1	-	-	RI, MS
	α -Terpinyl acetate	1335	1333	1686	-	-	1.8	RI, MS
	(E)-Myrtanyl acetate	1366	1370	1479	-	-	0.1	RI, MS
	β -Bourbonene	1386	1384	1518	-	-	0.1	RI, MS
	β -Elemene	1389	1386	1584	-	-	0.2	RI, MS
	Dodecanal	1389	1389	1695	-	3.1	-	RI, MS

No. ^a	Components	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	<i>T. capitatus</i>	<i>D. crinitus</i>	<i>T. articulata</i>	Identification ^e
	β-Funebrene	1419	1411	1591	-	-	1.6	RI, MS
	(<i>E</i>)-β-Caryophyllene	1421	1416	1591	1.6	0.6	4.0	RI, MS
	Thujopsene	1435	1427	1614	-	-	0.2	RI, MS
	α-Humulene	1455	1448	1668	0.1	-	2.5	RI, MS
	α-Acoradiene	1444	1455	1616	-	-	0.1	RI, MS
	β-Acoradiene	1458	1459	1642	-	-	0.1	RI, MS
	Alloaromadendrene	1462	1461	1630	-	-	0.1	RI, MS
	γ-Curcumene	1475	1471	1680	-	-	0.3	RI, MS
	Germacrene D	1479	1474	1700	-	-	1.3	RI, MS
	β-Selinene	1482	1480	1703	-	-	0.1	RI, MS
	γ-Humulene	1483	1480	1702	-	0.7	-	RI, MS
	Pentadecane	1500	1497	1502	-	5.1	-	RI, MS
	δ-Cadinene	1520	1511	1760	-	0.1	0.3	RI, MS
	β-Elemol	1535	1533	2063	-	-	0.4	RI, MS
	Isochavicol isobutyrate	1546	1541	2134	-	44.9	-	RI, MS
	Dodecanoic acid	1554	1560	2474	-	1.1	-	RI, MS, ref
	Caryophyllene oxide	1578	1567	1969	0.1	-	0.4	RI, MS
	Dodecyl acetate	1585	1580	1882	-	2.5	-	RI, MS, ref
	Globulol	1589	1577	2085	-	-	0.9	RI, MS
	Cedrol	1595	1591	2101	-	-	11.0	RI, MS
	Humulene epoxide II	1602	1599	2044	-	-	0.1	RI, MS
	epi-Cedrol	1613	1614	2141	-	-	0.2	RI, MS
	α-Acorenol	1623	1617	2106	-	-	0.3	RI, MS
	γ-Eudesmol	1619	1624	2198	-	-	0.1	RI, MS
	τ-Cadinol	1633	1632	2146	-	-	0.2	RI, MS
	α-Eudesmol	1632	1636	2211	-	-	0.3	RI, MS
	Isochavicol 2-methyl butyrate	1651	1648	2255	-	9.7	-	RI, MS
	Bulnesol	1665	1664	2198	-	-	0.2	RI, MS
	Heptadecane	1700	1703	1699	-	3.4	-	RI, MS
	Tetradecanoic acid	1761	1756	2649	-	3.1	-	RI, MS, ref
	Cedryl acetate	1764	1750	2160	-	-	0.6	RI, MS
	Neophytadiene	1807	1807	1918	-	0.4	-	RI, MS, ref
	Hexadecanoic acid	1951	1949	2916	-	1.1	-	RI, MS
	Manool	2070	2109	2684	-	-	0.3	RI, MS
	(<i>E</i>)-Phytol	2114	2102	2620	-	1.7	-	RI, MS
	Total identification %				99.5	92.0	96.5	
	% Hydrocarbon compounds				12.4	20.5	74.5	
	% Monoterpene hydrocarbons				10.7	5.5	63.8	
	% Sesquiterpene hydrocarbons				1.7	1.4	10.7	
	% Non terpenic hydrocarbon compounds				-	13.2	-	
	% Diterpenes hydrocarbons				-	0.4	-	
	% Oxygenated compounds				87.1	71.5	22.0	
	% Oxygenated monoterpenes				3.8	0.3	6.5	
	% Oxygenated sesquiterpenes				0.1	-	14.7	
	% Non terpenic oxygenated compounds				0.5	14.9	0.2	
	% Aromatic compounds				82.6	-	0.1	
	% Phenylpropanoids				0.1	54.6	-	
	% Oxygenated diterpenes				-	1.7	0.5	

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1), ^b Retention indices on the apolar Rtx-1 column (RI_a), ^c Retention indices on the polar Rtx-Wax column (RI_p), ^d Retention indices on the polar Rtx-Wax column (RI_p), ^e RI: Retention Indices; MS: Mass Spectrometry in EI mod.

Tab. 2: Percentage of inhibition of mycelial growth at various volumes of essential oils.

Incubation	<i>F. oxysporum</i> 25°C ± 2	<i>A. solani</i> 25°C ± 2	<i>A. niger</i> 25°C ± 2	<i>Penicillium sp1</i> 25°C ± 2	<i>Penicillium sp2</i> 25°C ± 2
Essential oil (2 µg mL ⁻¹)					
<i>T. capitatus</i>	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00
<i>T. articulata</i>	36.11 ± 0.08	35.12 ± 0.01	11.11 ± 0.11	34.56 ± 0.02	45.12 ± 0.06
<i>D. crinitus</i>	-	-	-	-	54.32 ± 0.21
Essential oil (5 µg mL ⁻¹)					
<i>T. articulata</i>	72.22 ± 0.06	70.12 ± 0.20	57.77 ± 0.11	64.44 ± 0.12	84.44 ± 0.08
<i>D. crinitus</i>	-	-	-	5.55 ± 0.21	77.77 ± 0.06

mycelial growth of *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2* by more than 50 %. Among these plants *T. capitatus*, belonging to the families of Lamiaceae, completely inhibited mycelial growth of tested fungus. *T. capitatus* essential oil produced the greatest reduction in mycelium growth with these fungi at 2 µg mL⁻¹, with percentage reductions of 100 % (Tab. 2). The second most effective essential oil with this five fungi was *T. articulata* essential oil, with percentage of mycelial reduction in *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *penicillium sp1* and *penicillium sp2* of 36.11, 35.12, 11.11, 34.56 and 45.12 %, respectively, at the same concentration (Tab. 2). However, the data indicate that the percentage inhibition of mycelial growth increased with increasing concentration of essential oils for all strains tested, suggesting that the essential oil of *T. articulata* inhibited the growth of all strains in a dose-dependent manner. Essential oil *D. crinitus* cause no percentage of mycelial reduction, except against *penicillium sp2*. This activity was more pronounced, where the percentage of inhibition increased to 54.32 % at 2 µg mL⁻¹, reaching a maximum of 77.77 % at 5 µg mL⁻¹, suggesting that this strain was the most sensitive to the essential oil (Tab. 2).

Discussion

In this study, the antifungal activity of essential oils of three plant species was evaluated against *F. oxysporum*, *A. solani*, *A. niger*, *Penicillium sp1* and *Penicillium sp2*. The mycelial growth of colonies in the presence of the essential oil of *T. capitatus* and *T. articulata* showed that it effectively controlled all the fungi tested. The mycelial growth of colonies in the presence of the essential oil of *T. capitatus* and *T. articulata* showed that it effectively controlled all the fungi tested. This efficiency can be explained by the presence of active molecules that inhibited the growth of the five phytopathogenic fungi. This activity may be produced by a single major compound or by the synergistic or antagonistic effect of various compounds (DEBA et al., 2008). Several authors have attributed the antifungal capacity of plant essential oils to the presence of components such as phenolic and terpene compounds (BEUCHAT, 1994; DAVIDSON, 1997; NYCHAS, 1995) indicated that mycelial growth inhibition is caused by the monoterpenes present in essential oils. These components would increase the concentration of lipidic peroxides such as hydroxyl, alkoxy and alko peroxy radicals and so bring about cell death. However, the influence of essential oil or bioactive compounds on flavor and aroma of tomato was not investigated and further work should be conducted to purpose the use efficiency of oil components in real applications such as fumigant. In conclusion, this paper is a part of an overall study that aims to determine the antifungal activities of natural floral resources of Algeria, in order to find new bioactive natural products. The essential oils of these plants

studied, exhibited an interesting antifungal activity against mycelial growth. Further work is necessary to explore the efficacy of these essential oils against disease rot of tomato and to exploit these oils as a new potential source of natural additives for the food and/or pharmaceutical industries.

Acknowledgements

The authors are indebted to the Ministère des Affaires Etrangères et Européennes throughout the research program "Partenariat Hubert Curien Tassili".

References

- AGRIOS, G., 1997: Plant pathology. 4th Ed., Academic Press, San Diego.
- AMARTI, F., SATRANI, B., AAFI, A., GHANMI, M., FARAH, A., ABERCHANE, M., EL AJJOURI, M., EL ANTRY, S., CHAOUCH, A., 2008: Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of Moroccan *Thymus capitatus* and *Thymus bleicherianus*. *Phytothérapie* 6, 342-347.
- BAJPAI, V.K., RAHMAN, A., KANG, S.C., 2007: Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu, Ind. Crop. Prod. 26, 28-35.
- BARNETT, H.L., HUNTER, B.B., 2006: Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Ed., The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota.
- BEN JEMIA, M., CHAABANE, S., SENATORE, F., BRUNO, M., KCHOUK, M.E., 2013: Studies on the antioxidant activity of the essential oil and extract of Tunisian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. (Cupressaceae). *Nat. Prod. Res.* 27, 1419-1430.
- BEUCHAT, L.R., 1994: Antimicrobial properties of spices and their essential oils. In: Natural antimicrobial systems and food preservation. In: Dillon, V.M., Board, R.G. (ed.), CAB International, 167-179. Wallingford, England.
- BOUNATIROU, S., SMITI, S., MIGUEL, M.G., FALEIRO, L., REJEB, M.N., NEFFATI, M., 2007: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chem.* 105, 146-155.
- CHIKHOUNE, A., HAZZIT, M., KERBOUCHE, L., BAALIOUAMER, A., AISSAT, K., 2013: *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters essential oils: chemical composition and biological Activities. *J. Essent. Oil Res.* <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2013.77462>.
- COSTA, R., ZELLNER, B.A., CRUPI, M.L., DE FINA, M.R., VALENTINO, M.R., DUGO, P., DUGO, G., 2008: GC-MS, GC-O, and enantio-GC investigation of the essential oil of *Tarhomonanthus camphoratus* L. *Flavour Frag. J.* 23, 40-48.
- CRISTANI, M., D'ARRIGO, M., MANDALARI, G., CASTELLI, F., SARPIETRO, M.G., MICIELI, D., VENUTI, V., BISIGNANO, G., SAIJA, A., TROMBETTA, D., 2007: Interaction of four monoterpenes contained in essential oils

- with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6300-6308.
- DAVIDSON, P.M., 1997: Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (ed.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 520-556. American Society for Microbiology, Washington DC.
- DEBA, F., XUAN, T.D., YASUDA, M., TAWATA, S., 2008: Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. Var. *Radiata*. *Food Control* 19, 346-352.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2004: 5th Ed., Council of Europe, 217-218. Strasbourg Cedex, France.
- GUMUS, T., DEMIRCI, A.S., SAGDIC, O., ARICI, M., 2010: Inhibition of heat resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. *Food Sci. Biotechnol.* 19, 1241-1244.
- JENNINGS, W., SHIBAMOTO, T., 1980: Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass-capillary gas chromatography. In: Jovanovich, H.B. (ed.), Academic Press, New York.
- KAROUSOU, R., KOUREAS, D.N., KOKKINI, S., 2005: Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochem.* 66, 2668-2673.
- KÖNIG, W.A., HOCHMUTH, D.H., JOULAIN, D., 2001: Terpenoids and related constituents of essential oils. Library of Mass Finder 2.1. Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany.
- LANFRANCHI, D.A., LAOUER, H., EL KOLLI, M., PRADO, S., MAULAY-BAILLY, C., BALDOVINI, N., 2010: Bioactive phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *J. Agric. Food Chem.* 58, 2174-2179.
- MC LAFFERTY, F.W., STAUFFER, D.B., 1994: Wiley Registry of Mass Spectral Data. 6th Ed., Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM version 3.10d, Palisade Newfield.
- MC LAFFERTY, F.W., STAUFFER, D.B., 1988: The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data. 4th Ed., Wiley-Interscience, New York.
- MICELI, A., NEGRO, C., TOMMASI, L., 2006: Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochem. Syst. Ecol.* 34, 528-535.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 2008: Spectral Database for Organic Compounds, NIST WebBook: <http://webbook.nist.gov/chemistry>.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY, 1999: PC version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library Norwalk. Perkin-Elmer Corp, CT, USA.
- NYCHAS, G.J.E., 1995: Natural antimicrobials from plants. In: Gould, G.W. New methods of food preservation, 58-89. Glasgow, Blackie Academic and Professional, London.
- PANDEY, D.K., TRIPATHI, N.N., TRIPATHI, R.D., DIXIT, S.N.Z., 1982: Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Z. Pfl. Krankh. Pfl. Schutz* 89, 344-349.
- PATHAK, V., 1997: Postharvest fruit pathology-Present status and future possibilities. *Indian Phytopathology* 50, 161-185.
- ROJAS, T.R., SAMPAYO, C.A.F., VÁZQUEZ, B.I., FRANCO, C.M., CEPADA, A., 2005: Study of interferences by several metabolites from *Aspergillus* spp. in the detection of aflatoxigenic strains in media added with cyclodextrin. *Food Control* 16, 445-450.
- RUBERTO, G., BIONDI, D., PIATELLI, M., 2000: The essential oil of Sicilian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link. *J. Essent Oil Res.* 4, 417-418.
- TAWAHA, K.A., HUDAIB, M.M., 2012: Chemical composition of the essential oil from flowers, flower buds and leaves of *Thymus capitatus* Hoffmanns. & Link from Jordan. *J. Essent Oil Bear Pl.* 15, 988-996.
- TOUMI, B.F., BENYAHIA, M., HAMEL, L., MOHAMED, H., BOUDAGHEN, L., 2011: Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters originaire d'Algérie. *Acta Bot Gallica* 158, 93-100.
- ZNINI, M., CRISTOFARI, G., MAJIDI, L., MAZOUZ, H., TOMI, P., PAOLINI, J., COSTA, J., 2011: Antifungal activity of essential oil from *Asteriscus graveolens* against postharvest phytopathogenic fungi in apples. *Nat. Prod. Commun.* 6, 1763-1768.

Address of the corresponding author:

E-mail: a_dibdz@yahoo.fr

Antioxidant and Antifungal Activity of Extracts of the Aerial Parts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns Against Four Phytopathogenic Fungi of *Citrus sinensis*

Leila Tabti¹; Mohammed ElAmine Dib^{2,*}; Nassira Gaouar¹; Bouayad Samira¹; Boufeldja Tabti²

¹Laboratory of Ecology and Natural Ecosystems Management, Faculty of Natural Sciences and the Life and Earth Sciences and the Universe, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria

²Laboratory of Natural and Bioactive Substances, Faculty of Science, Department of Chemistry, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria

*Corresponding author: Mohammed ElAmine Dib, Laboratory of Natural and Bioactive Substances (LASNABIO) Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria. Tel: +213-43286530, E-mail: a_dibdz@yahoo.fr

Received: August 1, 2013; Revised: November 8, 2013; Accepted: November 26, 2013

Background: Many medicinal plants from the Lamiaceae family can be easily found in Algeria. These plants have been used as traditional medicines by local ethnic groups. *Thymus capitatus* is known in Algeria as "Zaatar" and has been commonly used as a spice, and reported to have many biological effects.

Objectives: This paper focused on the assessment of the antioxidant potential and antifungal activity of essential oil and solvent extracts of *T. capitatus* against the growth of certain fungi.

Materials and Methods: Essential oil, ethanol and hexane extracts of *T. capitatus* were tested for their antioxidant and antifungal activities. The 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay was used to determine the free radical quenching capacity. Antifungal activity was assessed using the radial growth technique.

Results: DPPH free radical scavenging effect of the extracts was compared with standard antioxidant ascorbic acid and showed significant results. The ethanol extract showed high activity at the concentration of 80 g/mL, but less than the standard ascorbic acid. The essential oil was effective against all the fungi used in the experiment. The highest inhibitory effect on the growth of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium digitatum*, and *Fusarium solani* was exhibited by the essential oil at concentrations between 0.1 and 0.5 µg/mL.

Conclusions: These findings demonstrated that ethanol extract obtained from *T. capitatus* is a potential source of natural antioxidant, while the essential oil extract can be exploited as an ideal alternative to synthetic fungicides for use in the treatment of many fungal phytopathogens.

Keywords: Antioxidants; *Citrus sinensis*; 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; Lamiaceae

1. Background

Recently, the use of spices and herbs as antioxidants and antimicrobial agents in foods is becoming increasingly important. The growth of fungi on fresh fruits and vegetables is responsible for food spoilage and numerous plant diseases, which lead to significant economic losses. *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* are responsible for spoilage of many foods and cause decay of stored fruits damaged by insects, animals, early splits, and mechanical harvesting (1, 2). Apart from causing diseases in plants, many species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Alternaria* can also synthesize mycotoxins. These compounds are hazardous to animal and human health as they can be lethal, carcinogenic, mutagenic, teratogenic, immunosuppressant, or may mimic estrogens (3). On the other hand, antioxidants have been widely used as food addi-

tives to provide protection against oxidative degradation of foods (4, 5). The request for reduced use of synthetic antioxidants such as butylated hydroxyl toluene (BHT) and butylated hydroxyl anisole (BHA) in the food industry has triggered the need to develop alternative active compounds, which are harmless to the consumers and to the environment (6, 7). Additionally, in the food industry, the biological properties of plant extracts have been investigated for the possible use of essential oils and/or solvent extracts of plants for the control of pathogenic microorganisms. Consequently, reports on antioxidant and antifungal properties of local plants are of great interest. Thyme belongs to the Apiaceae family, and in Algeria this herb is used as a food additive and has been reported to possess various medicinal properties (8), and has proved

Implication for health policy makers/practice/research/medical education:

The essential oil from *T. capitatus* can be exploited as an ideal alternative to synthetic fungicides for use in the treatment of fungal phytopathogens. On the other hand, the ethanol extract from *T. capitatus* was found to be an effective antioxidant by *in vitro* assays.

Copyright © 2014, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences; Published by DOCS. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

to be toxic to insects (9). The essential oils from *Thymus* species are rich sources of phenolic monoterpenes such as thymol and carvacrol (10-12). Several studies have been published on the biological properties of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns and Link, such as its antibacterial (13-15), antifungal (16), antioxidant (17-21) and antiviral activities (22).

2. Objectives

The main aim of this work was to evaluate, for the first time, the antifungal properties of essential oil and solvent extracts of *T. capitatus* against the phytopathogens that cause severe diseases in Citrus, such as *A. niger*, *A. oryzae*, *P. digitatum*, and *F. solani*. Secondly, we evaluated the antioxidant activity of these extracts by the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method.

3. Materials and Methods

3.1. Plant Material

The aerial parts of *T. capitatus* were collected from Beni Snous forests near Tlemcen, Algeria during May 2011. Voucher specimens were deposited in the herbarium of the Tlemcen University Botanical Laboratory (Voucher number: UTL 05.11). The *C. sinensis* fruits were harvested from orchards of the El-Fhoul cooperative in Tlemcen (Algeria). The identification of the species was confirmed by Professor Noury Benabadji, and the specimens were deposited in the herbarium of the Faculty of Sciences of Tlemcen (Algeria).

3.2. Preparation of the Extracts

The oil was isolated by hydrodistillation (550-600 g of plant per sample) for 6 hours using a Clevenger-type apparatus according to the European Pharmacopoeia (23). The air-dried plant (50 g) was extracted three times (3 × 20 mL) with organic solvents (hexane and ethanol 98%) using a Soxhlet apparatus. The ethanol (98%) and hexane extracts were filtered and concentrated under vacuum. The organic solvent extracts were dried over anhydrous sodium sulfate, and then stored in sealed glass vials at 4-5 °C prior to the analysis. Each extraction was performed in triplicate.

3.3. Pathogenic Fungi

Four fungal isolates causing Citrus rot, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium digitatum* and *Fusarium solani* were isolated directly from rotten *C. sinensis* fruits. All isolated fungal species were transferred to sterilized triplicate 9 cm Petri dishes containing fresh potato dextrose agar medium (PDA: potato 200, dextrose 20 g and agar 15 g/L in distilled water at 25 °C) in the presence of a quantity of lactic acid (25%) to stop the growth of bac-

teria. The plates were incubated at 25 ± 2 °C for 8 days, in darkness. The developing fungal colonies were purified and identified up to the species level by microscopic examination through the help of published materials (24).

3.4. In Vitro Antifungal Assay

The antifungal activity of essential oil and extracts was tested using the radial growth technique (25, 26). Appropriate volumes of the essential oil and extracts were added to the PDA medium immediately before it was poured into the Petri dishes (9.0 cm diameter) (at 40-45 °C) to obtain a series of concentrations (0,01 to 5500 µg/mL). Each concentration was tested in triplicate. The discs of mycelial felt (0.5 cm diameter) of the plant pathogenic fungi, taken from 8-day-old cultures on PDA plates, were transferred aseptically to the center of Petri dishes. Amphotericin B was used as a reference fungicide. The treatments were incubated at 27 °C in the dark. Colony growth diameter was measured after the fungal growth in the control treatments had completely covered the Petri dishes. Percentage of mycelial growth inhibition (I%) was calculated using the following formula (27):

$$I\% = [(DC-DT)/DC] \times 100$$

Where DC and DT are average diameters of fungal colony from control and treatment samples, respectively. The measurements were used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC); lowest concentration of the essential oil and extracts that would inhibit the visible growth of a microorganism after overnight incubation. The fungistatic-fungicidal nature of essential oil and extracts was tested by observing revival of growth of the inhibited mycelial disc following its transfer to non-treated PDA. A fungicidal effect was when there was no growth, whereas a fungistatic effect was when temporary inhibition of microbial growth occurred.

3.5. Free radical Scavenging Effectiveness

The free radical-scavenging activities of essential oil and solvent extracts were measured using DPPH as described by Hatano et al. (1988) (28). Various concentrations (50, 100, 150, and 200 µg/1 mL) of the oil, (50-200 µg/mL) hexane and (20-80 µg/mL) ethanol extracts were added to 4 mL of a DPPH radical solution in ethanol (the final concentration of DPPH was 0.05 mM). The mixture was strongly shaken and left to stand at room temperature for 30 minutes in the dark. The absorbance was measured at 517 nm against a blank. Inhibition percentage (I%) of the free radical, DPPH was calculated according to the following formula:

$$I\% = 100 \times (A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}$$

Where A control is the absorbance of the control reaction, and A sample is the absorbance of the test compound. The sample concentration providing 50% inhibition (IC₅₀) was calculated from the graph of inhibition

percentage against sample concentration. Tests were performed in triplicates. Ascorbic acid was used as a positive control.

4. Results

4.1. Antioxidant Properties of Extracts

On one hand, the yields resultants of obtained solvent extraction, by Soxhlet apparatus were 1.6 and 0.27% for ethanol and hexane extract, respectively. On the other hand, the yield of *T. capitatus* essential oil obtained by hydrodistillation was 0.52% (w/w). The DPPH radical scavenging assay was used to compare the powerful antioxidant activity of extracts of *T. capitatus* with ascorbic acid as the standard. A freshly prepared DPPH solution displays a deep purple color ($\lambda_{\max} = 517$ nm) which gradually vanishes in the presence of a good hydrogen donor, i.e., a potent antioxidant. Table 1 demonstrates DPPH scavenging activity, expressed as percentage, caused by different concentrations of essential oil and solvent extracts from *T. capitatus*.

Table 1. DPPH Radical-scavenging of the Extracts From *T. capitatus* at Different Concentrations ^a

Extracts and Concentrations, $\mu\text{g/mL}$	Scavenging Effect on DPPH, %	DPPH IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$
EO		102 \pm 1.01
50	39 \pm 1	
100	48 \pm 3.1	
150	63 \pm 2.5	
200	78 \pm 4.1	
Ethanol		31 \pm 0.92
20	43 \pm 3.1	
40	56 \pm 2.8	
60	68 \pm 4.5	
80	88 \pm 3.0	
Hexane		99 \pm 1.06
80	41 \pm 3.2	
100	55 \pm 1	
150	63 \pm 2.6	
200	82 \pm 5.1	
Ascorbic acid		0.95 \pm 0.12
0.4	28 \pm 0.7	
0.5	38 \pm 0.6	
1	59 \pm 1.1	
2	86 \pm 2.6	

^a Value is expressed as Mean \pm SD, (n = 3)

Comparison of the DPPH scavenging activity of investigated essential oil and solvent extracts with those expressed by ascorbic acid showed that all of the examined

extracts had noticeable antioxidant effects. The weakest radical scavenging activity (82 and 78%) was exhibited by the hexane extract and essential oil at a concentration of 200 $\mu\text{g/mL}$, whereas the strongest activity (88%) was exhibited by the ethanol extract at a concentration of 80 $\mu\text{g/mL}$. As shown in Table 1, the antioxidant activity of extracts and essential oil also increased with an increase in their concentrations. At higher concentrations, the antioxidant activity of extracts was closer to the scavenging effect of ascorbic acid. For instance, at 2.0 $\mu\text{g/mL}$, the scavenging activity of ascorbic acid was around 86%, and an 80 $\mu\text{g/mL}$ ethanol extract solution had a scavenging activity of 88%. The same value was obtained for the hexane extract and essential oil at a concentration of 200 $\mu\text{g/mL}$. Therefore, DPPH scavenging activity is usually presented by the IC_{50} value. Concentrations of the antioxidants providing 50% inhibition of DPPH in the test solution (IC_{50}) were calculated and presented in Table 1. The ethanol extract of *T. capitatus* had the highest radical scavenging activity with the lowest IC_{50} value of (31 $\mu\text{g/mL}$). This was higher than the hexane extract with an IC_{50} value of 99 $\mu\text{g/mL}$, and essential oil with an IC_{50} value of 102 $\mu\text{g/mL}$.

4.2. Antifungal Activity of *T. capitatus* Extracts

The inhibitory effects of the three extracts were evaluated against four pathogenic fungi: *A. niger*, *A. oryzae*, *P. digitatum* and *F. solani*. The results obtained from assays of antifungal activity at different concentrations of *T. capitatus* extracts by the radial growth technique are reported in Table 2. The results indicate that the inhibition of the mycelial growth of each strain was significantly influenced by the extracts concentration. This study revealed the significant antifungal activity of *T. capitatus* extracts. Essential oil had the highest observed antifungal activity against all fungi. Essential oil completely inhibited all strains. The highest observed activity was against *A. niger* with the minimum concentration causing 100% mycelial growth inhibition value of 0.1 $\mu\text{g/mL}$. The second highest activity was observed against *A. oryzae* and *F. solani* with the minimum concentration causing 100% mycelial growth inhibition being 0.2 $\mu\text{g/mL}$. However, the minimum concentration causing 100% mycelial growth inhibition for *P. digitatum* strain was 0.5 $\mu\text{g/mL}$. Moreover, the oil was fungicidal for the 3 pathogens *A. niger*, *A. oryzae* and *F. solani*, and fungistatic for *P. digitatum*. However, hexane and ethanol extracts had the lowest activity, with the minimum concentration causing 100% mycelial growth inhibition value being greater than 1200 $\mu\text{g/mL}$.

5. Discussion

Antioxidants have been widely used as food additives to provide protection against oxidative degradation of food. Furthermore, many synthetic antioxidant components have toxic and/or mutagenic effects. On the other hand, food decay by spoilage fungi causes considerable

Table 2. Antifungal Activity of *T. capitatus* Extracts Against *A. niger*, *A. oryzae*, *P. digitatum* and *F. solani*^a

Extracts	<i>A. niger</i>				<i>A. oryzae</i>				<i>P. digitatum</i>				<i>F. solani</i>			
	95% Confidence Limits		100% Inhibition, µg/mL ^d	95% Confidence Limits	95% Confidence Limits		100% Inhibition, µg/mL ^d	95% Confidence Limits	95% Confidence Limits		100% Inhibition, µg/mL ^d	95% Confidence Limits		100% Inhibition, µg/mL ^d		
	Lower ^b	Upper ^c		Lower ^b	Upper ^c		Lower ^b	Upper ^c	Lower ^b	Upper ^c		Lower ^b	Upper ^c	Lower ^b	Upper ^c	
EO	0.01	1.0	0.1 ± 0.01 ^{e, f}	0.01	1.0	0.2 ± 0.01 ^{e, f}	0.05	1.0	0.5 ± 0.06 ^{g, f}	0.02	1.0	0.2 ± 0.01 ^{e, f}				
Hexane	500	2500	1250 ± 12.8 ^{e, f}	500	2500	1250 ± 26.1 ^{e, f}	500	2500	1250 ± 16.1 ^{e, f}	500	2500	1250 ± 13.1 ^{e, f}				
Ethanol	500	> 5500	> 5500	500	> 5500	> 5500	500	> 5500	> 5500	500	> 5500	> 5500				
Am B	100	250	156 ± 2.9 ^f	100	250	156 ± 7.6 ^f	500	800	612 ± 6.1 ^f	100	250	156 ± 0.45 ^{e, f}				

^a Am B, amphotericin B; EO, essential oil.

^d The minimum concentration causing 100% mycelial growth inhibition

^b The lowest concentration that would inhibit the visible growth of a microorganism.

^c The greatest concentration causing 100% mycelial growth inhibition.

^e Fungicidal effect.

^f Values expressed are Mean ± SD of three parallel measurements (n = 3).

^g Fungistatic effect.

economic loss, and constitutes a health risk for consumers due to the potential of fungi to produce mycotoxins. The indiscriminate use of synthetic antifungals has led to the development of resistant strains, which has necessitated the utilization of higher concentrations, with the consequent increase of toxic residues in food products. Plants produce diverse arrays of phytochemicals, which are useful for the development of new drugs. These phytochemicals are mostly secondary metabolites constantly synthesized by the plant for defensive purposes (29). In this study, we evaluated the antioxidant activity of different solvent extracts of the *T. capitatus* by the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results demonstrated that the ethanol extract compared to essential oil and hexane extract from *T. capitatus* was more active in scavenging stable free radical DPPH system with IC₅₀ of 31 ± 0.92 µg/mL, comparable with ascorbic acid, a synthetic antioxidant agent (0.95 ± 0.12 µg/mL). This antiradical activity could be due to the phenolic compounds. In fact, it has been found that antioxidant molecules such as polyphenols, flavonoids, and tannins reduce and discolor DPPH due to their hydrogen donating ability (30). Similar results were found in the literature, which demonstrated that methanolic extracts of *T. capitatus* flowers are able to reduce DPPH to the yellow-colored diphenylpicrylhydrazine with an IC₅₀ of 12 µg/mL, exhibiting higher activity than the synthetic antioxidant agent BHT (25 µg/mL) (31). Moreover, *T. capitatus* expressed different DPPH assay values (DPPH-TEAC = 30.4 mg Trolox/g DW) (32). Furthermore, *T. capitatus* essential oil showed pronounced antifungal activity against all fungi, the minimum concentration causing 100% mycelial growth inhibition values ranged between 0.1 and 0.5 µg/mL stronger to the reference fungicide, amphotericin B. The antimicrobial activity of *T. capitatus* essential oil might be related to its phenolic terpenes, especially the major components carvacrol and thymol (33, 34). Previous work focusing on the antimicrobial activities of different *Thymus* essential oils have tried to correlate these activities to one or many major components. In fact, antifungal activities of some *Thymus* oils were previously explained by the high phenol (thymol and carvacrol) content. It has been shown that the strong antifungal activity of *T. vulgaris* essential oil is due to its high amount of thymol (25.57%) (35). Effective antifungal activity of a *T. pallescens* from certain regions in Algeria was also explained by their high content of thymol (49.3%) and carvacrol (57.7%), respectively (36). However, the carvacrol and thymol, which are the main components of the essential oils of *Thymus*, showed strong larvicidal efficiency (37, 38). This paper is part of an overall study aimed to determine the antifungal and antioxidant activities of natural floral resources of Algeria, to find new bioactive natural products. The essential oil possesses potent antifungal activities against *A. niger*, *A.*

oryzae, *P. digitatum* and *F. solani*. Therefore, the essential oil can be exploited as an ideal alternative to synthetic fungicides for using in the treatment of many fungal phytopathogens of *C. sinensis*. However, the influence of essential oil or bioactive compounds on flavor and aroma of Citrus was not investigated and further work should be conducted to examine the efficiency of volatile components in real applications such as fumigant (essential oil). Secondly, the ethanol extract of *T. capitatus* was found to be an affective antioxidant by *in vitro* assays. On the basis of these results, the thyme essential oil would thus be recommended as a plant based ideal preservative for enhancement of shelf life of stored food commodities. The findings of the present study may draw the attention of food industries to conduct further experiments regarding large scale exploitation of thyme oil as preservative of food commodities.

Acknowledgements

The authors are thankful to Professor Noury Benadji of the Botanical Laboratory, Biology Department, AbouBekr Belkaid University for the identification of the vegetable matter.

Authors' Contribution:

All authors contributed equally.

Financial Disclosure:

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Funding/Support:

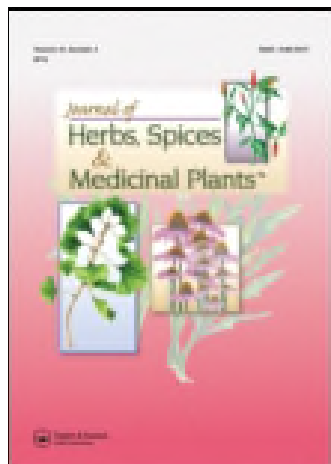
There is no financial support.

References

- Rojas TR, Sampayo CAF, Vázquez BI, Franco CM, Cepeda A. Study of interferences by several metabolites from *Aspergillus* spp. in the detection of aflatoxigenic strains in media added with cyclodextrin. *Food Control*. 2005;**16**(5):445-50.
- Agrios G. *Plant pathology*. 4th ed. San Diego: Academic Press; 1997.
- da Cruz Cabral L, Fernandez Pinto V, Patriarca A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *Int J Food Microbiol*. 2013;**166**(1):1-14.
- Dorman HJ, Bachmayer O, Kosar M, Hiltunen R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected lamiaceae species grown in Turkey. *J Agric Food Chem*. 2004;**52**(4):762-70.
- Hsieh PC, Mau JL, Huang SH. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. *Food Microbiol*. 2001;**18**(1):35-43.
- Shi J, Gong J, Liu J, Wu X, Zhang Y. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. *LWT-Food Sci Tech*. 2009;**42**(2):477-82.
- Reische D, Lillard D, Eintemiller R. Antioxidants in food lipids. In: Aho C, Min D editors. *Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. New York: Marcel Dekker; 1998. p. 423-48.
- Quezel P, Santa S, Schotter O. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris. 1962.
- Sukumar K, Perich MJ, Boobar LR. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J Am Mosq Control Assoc*. 1991;**7**(2):210-37.
- Karousou R, Koureas DN, Kokkini S. Essential oil composition is related to the natural habitats: *Coridothymus capitatus* and *Satureja thymbra* in NATURA 2000 sites of Crete. *Phytochemistry*. 2005;**66**(22):2668-73.
- Miceli A, Negro C, Tommasi L. Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochem Syst Ecol*. 2006;**34**(6):528-35.
- El Mokhtar El Ouariachi JP, Bouyanzer A, Tomi P, Hammouti B, Salghi R, Majidi L, et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns and link from Morocco. *J Med Plant Res*. 2011;**24**:5773-8.
- Amouri MN, Akrouf A, Hajer El Jani S. Screening of Antiradical and Antibacterial Activities of Essential Oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Growing Wild in the Southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech*. 2009;**2**(1):29-39.
- Cosentino S, Tuberose CI, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E, et al. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol*. 1999;**29**(2):130-5.
- Usai M, Foddai M, Sechi B, Juliano C, Marchetti M. Comparison of antibacterial activity of natural and hydroformylated essential oil of *Thymus capitatus* growing wild in north Sardinia with commercial *Thymus* essential oils. *Nat Prod Commun*. 2010;**5**(12):1985-9.
- Goren AC, Bilsel G, Bilsel M, Demir H, Kocabas EE. Analysis of essential oil of *Coridothymus capitatus* (L.) and its antibacterial and antifungal activity. *Z Naturforsch C*. 2003;**58**(9-10):687-90.
- Biondi D, Cianci P, Geraci C, Ruberto G, Piattelli M. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour Fragr J*. 1993;**8**(6):331-7.
- Bounatirou S, Smiti S, Miguel MG, Faleiro L, Rejeb MN, Neffati M, et al. Thermal stability of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link.: Effect on the chemical composition and the antioxidant and antibacterial activities. *Acta alimentaria*. 2010;**39**(3):299-307.
- Diri M, Özler MA, Kivrak I, Harmandar M, Duru ME. The Chemical Composition of Essential Oil and Antioxidant Activity of Various Extracts of *Coridothymus capitatus* (L.) Reichb. *Acta Horti*. 2009;**826**:357-62.
- Mkaddem MG, Romdhane M, Ibrahim H, Ennajar M, Lebrihi A, Mathieu F, et al. Essential oil of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. from Matmata, Tunisia: gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial and antioxidant activities. *J Med Food*. 2010;**13**(6):1500-4.
- Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*. 2000;**88**(2):308-16.
- Salah-Fatnassi KBH, Slim-Bannour A, Harzallah-Skhiri F, Mahjoub MA, Mighri Z, Chaumont JP, et al. In vitro antiviral and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link essential oils. *Acta Bot Gallica*. 2010;**157**(3):433-44.
- European Pharmacopoeia: Supplement*. Council of Europe; 1998.
- Barnett H, Hunter B. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Minnesota: APS Press; 2006.
- Zambonelli A, d'Aulerio AZ, Bianchi A, Albasini A. Effects of Essential Oils on Phytopathogenic Fungi In Vitro*. *J Phytopatol*. 1996;**144**(9-10):491-4.
- Bajpai VK, Rahman A, Kang SC. Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *Ind Crop Prod*. 2007;**26**(1):28-35.
- Pandey DK, Tripathi NN, Tripathi RD, Dixit SN. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *J Plant Dis Plant Prot*. 1982;**89**:344-9.
- Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1988;**36**(6):2090-7.
- Chew YL, Goh JK, Lim YY. Assessment of in vitro antioxidant ca-

- capacity and polyphenolic composition of selected medicinal herbs from Leguminosae family in Peninsular Malaysia. *Food Chem.* 2009;**116**(1):13-8.
30. Kruma Z, Andjelkovic M, Verhe R, Kreicbergs V, Karklina D, Venskutonis PR, et al., editors. Phenolic compounds in basil, oregano and thyme. *Proceedings of the 3rd Baltic Conference on Food Science and Technology. FOODBALT-2008.* 2008; Jelgava, Latvia. Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology: p. 99-103.
 31. Jabri-Karoui I, Bettaieb I, Msaada K, Hammami M, Marzouk B. Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. *J Funct Food.* 2012;**4**(3):661-9.
 32. Al-Mustafa AH, Al-Thunibat OY. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak J Biol Sci.* 2008;**11**(3):351-8.
 33. Park BS, Choi WS, Kim JH, Kim KH, Lee SE. Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. *J Am Mosq Control Assoc.* 2005;**21**(1):80-3.
 34. Pavela R, Vrchotova N, Triska J. Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* 2009;**105**(5):1365-70.
 35. Giordani R, Hadeif Y, Kaloustian J. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fito-terapia.* 2008;**79**(3):199-203.
 36. Hazzit M, Baaliouamer A, Faleiro ML, Miguel MG. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J Agric Food Chem.* 2006;**54**(17):6314-21.
 37. Hasan MDK, Kabir AKL, Mistry S. Chemical and Biological Investigation of Leaves of *Polygonum plebeju*. *S J Pharm Sci.* 2009;**2**:66-71.
 38. Choi WS, Park BS, Ku SK, Lee SE. Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens pallens*. *J Am Mosq Control Assoc.* 2002;**18**(4):348-51.

This article was downloaded by: [Université Aboubeker Belkaid de Tlemcen]
On: 22 August 2014, At: 08:25
Publisher: Taylor & Francis
Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/whsm20>

Fatty-Acid Composition and Antifungal Activity of Extracts of *Thymus capitatus*

Leila Tabti^a, Mohammed El Amine Dib^b, Nassira Gaouar Benyelles^a, Nassim Djabou^b, Samira Bouayad Alam^a, Julien Paolini^c, Jean Costa^c & Alain Muselli^c

^a Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et l'univers, Université de Tlemcen, Algérie

^b Département de Chimie, Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, Algérie

^c Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels, Campus Grimaldi, Corte, France

Published online: 20 Aug 2014.

To cite this article: Leila Tabti, Mohammed El Amine Dib, Nassira Gaouar Benyelles, Nassim Djabou, Samira Bouayad Alam, Julien Paolini, Jean Costa & Alain Muselli (2015) Fatty-Acid Composition and Antifungal Activity of Extracts of *Thymus capitatus*, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 21:2, 203-210, DOI: [10.1080/10496475.2014.941084](https://doi.org/10.1080/10496475.2014.941084)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10496475.2014.941084>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

Fatty-Acid Composition and Antifungal Activity of Extracts of *Thymus capitatus*

LEILA TABTI,¹ MOHAMMED EL AMINE DIB,² NASSIRA GAOUAR
BENYELLES,¹ NASSIM DJABOU,² SAMIRA BOUAYAD ALAM,¹
JULIEN PAOLINI,³ JEAN COSTA,³ and ALAIN MUSELLI³

¹Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Faculté des Sciences de la nature
et de la vie, et des sciences de la terre et l'univers, Université de Tlemcen, Algérie

²Département de Chimie, Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO),
Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, Algérie

³Université de Corse, UMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels,
Campus Grimaldi, Corte, France

The aerial parts of Thymus capitatus were examined for fungicidal activities and analyzed for their fatty acids concentrations, using trans-esterification and gas chromatography mass spectroscopy analysis. Fifteen fatty acids were identified, accounting for 95.0 % of the lipid content. Two major fatty acids, α -linolenic (29.6 %) and linoleic (15.1 %), were found in abundance in the hexane extract. The effect of fatty acids and hexane extract on the growth of the plant pathogenic fungi isolated by citrus fruits—Aspergillus niger, Aspergillus oryza, Penicillium digitatum, and Fusarium solani—fungi were examined by in vitro studies. The fatty acids and hexane extract inhibited the mycelial growth of all strains tested.

KEYWORDS *fatty-acids, fungicidal activity, phytopathogens, Thymus capitatus*

INTRODUCTION

Aspergillus, *Fusarium*, and *Penicillium* species are responsible for food spoilage and decay of stored fruits damaged by insects, animals, early

Received January 6, 2014.

Address correspondence to Mohammed El Amine Dib, Département de Chimie, Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, BP 119, 13000, Tlemcen, Algérie. E-mail: a_dibdz@yahoo.fr

splits, and mechanical harvesting (26,28); they also synthesize hazardous mycotoxins that can be lethal, carcinogenic, mutagenic, teratogenic, or immunosuppressant or/and may mimic estrogens (15). *Thymus Capitatus* is used both for food and medicinal purposes throughout Algeria. It is a commonly used spice locally known as “zaâtar.” Previous studies have shown that *Thymus sp.* have strong antifungal, antibacterial, antioxidant, and insecticidal activities (9,10,20,27).

Environmental quality and pesticide resistance have dictated the need for alternative pest management techniques in field crops (25). Studies have demonstrated the antibacterial and antifungal activity of lauric acid, (5,6); linoleic acid against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* (17,24); and linoleic acid and oleic acid against fourth instar *Aedes aegyptii* larvae (12,14). This study evaluated the antifungal properties of the fatty acids and hexane extract against phytopathogens that cause citrus rot including *Aspergillus niger*, *A. oryza*, *Penicillium digitatum*, and *Fusarium solani*.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material

The aerial parts of *T. capitatus* were collected from Beni Snous forests near Tlemcen, Algeria in May 2011. The plant material was botanically identified by the Laboratory of Ecology and Ecosystem Management of University of Tlemcen, Algeria.

Preparation of the Extract

Boiling water extracts (100 mL) of plant samples (50 g) obtained under reflux conditions were extracted by liquid-liquid extraction with organic solvent (Hexane), three times (3×20 mL), filtered, concentrated under vacuum to obtain an extract in yields of 0.57 % (w/w), dried over anhydrous sodium sulfate, and then stored in sealed glass vials at 4° to 5°C prior to analysis.

Phytochemical Prospecting of the Plant Extracts

A small portion of the dry hexane extract was used for the phytochemical screening for the presence of flavonoids, alkaloids, coumarins, polyterpenoids, and steroids (13,16).

Extraction of Fatty Acids

Aerial parts of *T. capitatus* (100 g) were shaken in petroleum ether for 8 h and concentrated under reduced pressure to give 1.62 g (1.62 % w/w) of the

oil sample. Complete removal of solvents from the oil sample was achieved by passing a stream of nitrogen through it, and thereafter the oil was stored below 4°C before derivate of its fatty acids. One gram of petroleum ether extract was saponified with 50 mL of methanolic potassium hydroxide solution (2 mol.L⁻¹) for 1 h under reflux. The soapy aqueous solution obtained previously was acidified (HCl 1N) until precipitation of fatty acids (pH 5–6). The free fatty acids were extracted with ether (3 × 50 mL) and dried on MgSO₄ and then weighed. Fatty acids were transformed into their methyl ester derivatives by the addition of a methanolic solution of BF₃ 10% (19). Then the fatty acids were extracted three times with 50 mL of hexane at room temperature. The organic layer was evaporated and dried on Na₂SO₄ and yielded 57% w/w of diethyl ether extract.

Gas Chromatography Analysis

Gas chromatography (GC) analyses were carried out using a Perkin-Elmer (Waltham, MA, USA) Autosystem XL GC apparatus equipped with a dual flame ionization detection system and a fused-silica capillary column (60 m × 0.22 mm I.D., film thickness 0.25 μm), Rtx-1 (polydimethylsiloxane). The oven temperature was programmed from 60°C to 230°C at 2°C.min⁻¹ and then held isothermally at 230°C for 35 min. Injector and detector temperatures were maintained at 280°C. Samples were injected in the split mode (1/50) using helium as the carrier gas (1 mL.min⁻¹); the injection volume was 0.2 μL. Retention indices of the compounds were determined using Perkin-Elmer software, and the relative concentrations were calculated based on GC peak areas without using correction factors.

Gas Chromatography Mass Spectrometry Analysis

Samples were analyzed with a Perkin-Elmer Turbo mass detector (quadrupole), coupled to a Perkin-Elmer Autosystem XL, equipped with fused-silica capillary columns Rtx-1 and Rtx-Wax (ion source temperature 150°C; energy ionization 70 eV). EI mass spectra were acquired over the mass range 35–350 Da (scan time: 1s). All GC conditions were as above with split 1/80.

Component Identification

The method used for identification of individual components was based on a comparison of calculated retention indices on an apolar column with those of either authentic compounds or literature data (21,22) and comparison of MS with those of authentic compounds.

Pathogenic Fungi

Four fungal isolates causing citrus rot—*A. niger*, *A. oryza*, *P. digitatum*, and *F. solani*—were isolated directly from rooted *Citrus sinensis* fruits from orchards of the El-Fhoul cooperative in Tlemcen (Algeria) and transferred to three sterilized replicates of 9-cm Petri dishes containing fresh potato dextrose agar medium (PDA: potato, 200; dextrose, 20 g; and agar, 15 gL⁻¹ in distilled water at 25°C) in the presence of lactic acid (25%) to stop the growth of bacteria. The plates were incubated at 25° ± 2°C for 8 d in darkness. The developing fungal colonies were purified and identified up to the species level by microscopic examination (4).

In vitro Antifungal Assay

The antifungal activity of fatty acids was tested using radial growth technique (3). Appropriate volumes of the fatty acids were added to PDA medium immediately before it was poured into the Petri dishes (9.0-cm diameter) at 40° to 45°C to obtain a series of concentrations (0.01–1.0 µg.mL⁻¹). Each concentration was tested in triplicate. The discs of mycelial felt (0.5-cm diameter) of the plant pathogenic fungi, taken from 8-day-old cultures on PDA plates, were transferred aseptically to the center of Petri dishes. Amphotericin B was used as reference fungicide. The treatments were incubated at 27°C in the dark. Colony growth diameter was measured after the fungal growth in the control treatments had completely covered the Petri dishes. Percentage of mycelial growth inhibition (I%) was calculated as:

$$(I\%) = [(DC-DT)/DC] \times 100 \quad (23);$$

where DC and DT are average diameters of fungal colony of control and treatment, respectively. The measurements were used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC—the lowest concentration of fatty acids that will inhibit the visible growth of a microorganism after overnight incubation). The fungistatic-fungicidal nature of fatty acids was tested by observing the revival of growth of the inhibited mycelial disc following its transfer to non-treated PDA. A fungicidal effect was where there was no growth, and a fungistatic effect was where temporary inhibition of microbial growth occurred. Data were analyzed by one-way analysis of variance and the means compared by Dunnett's test ($p < 0.05$).

RESULTS

Phytochemical Screening

The hexane extracts tested positive for flavonoids, polyterpenoids, and steroids and negative for coumarins and alkaloids.

Fatty Acids Profile

The gas chromatography mass spectroscopy analysis of the lipid extracts had 15 fatty acids, accounting for 95.0% of the total acid fraction (Table 1). The extract was characterized by high content of α -linolenic (29.6%), palmitic (16.6%), linoleic (15.1%), and behenic acid (9.6%). Other compounds found included 1,2-benzendicarboxylic (3.9%), stearic (3.8%), arachidic (3.5%), and oleic acids (2.2%).

Antifungal Activity of Extracts

The data indicated antifungal activity on the mycelial growth of all strains tested (Table 2). The percentage inhibition increased with increasing quantity of fatty acids and hexane extract, suggesting a dose-dependent response (see Table 2). The fatty acids exhibited more pronounced activity for *F. solani*, *A. oryzae*, and *P. digitatum*, where the percentages of inhibition increased to 53.26, 63.96, and 73.13, respectively, at 0.1 mg.mL⁻¹, reaching a maximum of 100% at 0.5 mg.mL⁻¹. Thus these strains were the most sensitive to the fatty

TABLE 1 Fatty Acids Present in the Hexane Extracts of Aerial Parts of *Thymus capitatus*

N ^a	Acid components	IRIa ^b	RIa ^c	RIp ^d	Aerial parts ^e	Identification
1	Myristic (Tetradecanoic)	1707	1708	2000	0.5	RI, MS, Ref.
2	Pentadecanoic	1810	1808	2126	0.2	RI, MS, Ref.
3	Palmitic (Hexadecanoic)	1907	1910	2208	16.6	RI, MS, Ref.
4	Margaric (Heptadecanoic)	2011	2009	2309	0.2	RI, MS, Ref.
5	Linoleic ((Z,Z)-9,12-octadecadienoic)	2073	2073	2481	15.1	RI, MS, Ref.
6	α -Linolenic ((Z,Z,Z)-9.12.15-octadecatrienoic)	2078	2078	2549	29.6	RI, MS, Ref.
7	Oleic ((Z)-9-Octadecenoic)	2081	2081	2433	2.2	RI, MS, Ref.
8	(Z)-6-Octadecenoic	2104	2087	2437	0.9	RI, MS, Ref.
9	Stearic (Octadecanoic)	2113	2111	2414	3.8	RI, MS, Ref.
10	Nonadecanoic	2210	2210	2517	0.2	RI, MS, Ref.
11	Arachidic (Eicosanoic)	2311	2310	2622	3.5	RI, MS, Ref.
12	Heneicosanoic	2410	2411	2724	0.8	RI, MS, Ref.
13	1,2-Benzendicarboxylic	2500	2505	2884	3.9	RI, MS, Ref.
14	Behenic (Docosanoic)	2512	2513	2829	16.7	RI, MS, Ref.
15	Tricosanoic	2611	2613	2929	0.8	RI, MS, Ref.
Total identified					95.0	
Saturated fatty acids					43.3	
Unsaturated fatty acids					47.8	
Other					3.9	

RI, retention indices; MS, mass spectrometry in EI mode; Ref, compounds identified from literature data (16,17). ^aOrder of elution is given on apolar column (Rtx-1). ^bRetention indices of literature of corresponding esters on the apolar column (IRIa). ^cRetention indices of corresponding esters on the apolar Rtx-1 column (RIa). ^dRetention indices of corresponding esters on the polar Rtx-1 column (RIp). ^eRelative percentages (%) on apolar column (Rtx-1).

TABLE 2 Effects of Fatty Acids and Hexane Extract of *Thymus capitatus* on Mycelial Growth of Pathogenic Fungi from Citrus Rot

Extract Concentration (mg.mL ⁻¹)	Mycelial growth (%)			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus oryza</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Fusarium solani</i>
Fatty acids				
0.1	15.23 ± 0.15	63.96 ± 0.36	73.13 ± 0.25	53.26 ± 0.12
0.5	33.33 ± 0.36	100.00 ± 0.01	100.00 ± 0.01	100.00 ± 0.01
Hexane				
0.1	57.14 ± 0.16	72.10 ± 0.56	70.00 ± 0.16	72.22 ± 0.22
0.5	71.42 ± 0.10	100.00 ± 0.01	90.00 ± 0.66	100.00 ± 0.01
1.2	90.11 ± 0.26	100.00 ± 0.01	100.00 ± 0.01	100.00 ± 0.01

Note: Data are mean ± SD.

acids, indicating that this quantity was the minimal inhibitory quantity (MIQ) of *T. capitatus* against *F. solani*, *A. oryzae*, and *P. digitatum* (see Table 2). *A. niger* showed some resistance to the fatty acids, and its action was moderate for both concentrations tested. Hexane extract of *T. capitatus* also exhibited antifungal activity against *F. solani*, *A. oryzae*, and *P. digitatum* fungus with an MIQ of 1.2 mg.mL⁻¹. On the other hand, the hexane extract had an effect at 1.2 mg.mL⁻¹ of 90.11% for *A. niger*, where the MIC against this fungal strain was >1.2 mg.mL⁻¹.

DISCUSSION

Results of this study showed antifungal activities of *T. capitatus* against the fungi causing citrus rot. Other studies showed that arachidonic acid (20:4), a polyunsaturated fatty acid, may increase antifungal susceptibility of biofilms formed by two closely related *Candida sp.* and could result in the reduction of the dose of the antimycotic agent required to inhibit biofilm formation and that linoleic acid (18:2), a polyunsaturated fatty acid, was antifungal against several plant pathogenic fungi (18). Avis (2) also showed that antifungal compounds targeting fungal membranes were prone to pathogen resistance that would shorten their effective life span, but the synergism of these compounds with antifungal fatty acids could provide prolonged usage (9,11). The results are supported by previous reports of insecticidal activity of linoleic acid and oleic acid against fourth instar *Aedes aegyptii* larvae (24).

Additional health benefits may be achieved from *Thymus capitatus* due to the presence of flavonoids and polyterpenoids, which demonstrated anti-inflammatory, antifungal, and antioxidant properties (3,9,16), and the essential fatty acids linolenic and linoleic acids implicated in human health promotion (1,2,7,8).

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Prof. Noury Benabadji (Botanical Laboratory, Biology Department, Aboubekr Belkaid University) for the identification of the vegetable matter.

FUNDING

The authors are indebted to the Agence Universitaire de la Francophonie for providing a research grant of Nassim Djabou, and the Ministère des Affaires Étrangères et Européennes throughout the research program “Partenariat Hubert Curien Tassili.”

REFERENCES

1. Anderson, B. M., and D. W. L. Ma. 2009. Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? *Lipids. In Health and Disease* 8:8–33.
2. Avis, T. J. 2007. Antifungal compounds that target fungal membrane: Application in plant disease control. *Can. J. Plant Pathol.* 29:323–329.
3. Bajpai, V. K., A. Rahman, and S. C. Kang. 2007. Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oil and crude extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu, Ind. *Crops Prod.* 26:28–5.
4. Barnett, H. L., and B. B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. In H. L. Barnett and B. B. Hunter, eds. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th ed. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
5. Bergsson, G., J. Arnfinnsson, O. Steingrímsson, and H. Thormar. 2001. *In vitro* killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:3209–3212.
6. Dawson, P. L., G. D. Carl, J. C. Acton, and I. Y. Han. 2002. Effect of lauric acid and nicin impregnated soy based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. *Poultry Sci.* 81:721–726.
7. De Caterina, R. 2011. n-3 Fatty acids in cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 364:2439–2450.
8. DeLany, J. P., M. M. Windhauser, C. M. Champagne, and G. A. Bray. 2000. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 72:905–911.
9. Dob, T., D. Dahmane, T. Benabdelkader, and C. Chelghoum. 2006. Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Inter. J. Aromather.* 16:95–100.
10. Essawi, T., and M. Srour. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 70:343–349.
11. Gonzalez, C. F., E. M. Provin, L. Zhu, and D. J. Ebbole. 2002. Independent and synergistic activity of synthetic peptides against thiabendazole-resistant *Fusarium sambucinum*. *Phytopathology* 92:917–924.

12. Hamberg, M. 1999. An epoxy alcohol synthase pathway in higher plants: Biosynthesis of antifungal trihydroxy oxylipins in leaves of potato. *Lipids* 34:1131–1142.
13. Harborn, J. B. 1998. *Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman & Hall, London. 302 pp.
14. Kato, T., Y. Yamaguchi, N. Abe, T. Uychara, T. Namai, M. Komada, and Y. Shiobara. 1985. Structures and synthesis of unsaturated trihydroxy C₁₈ fatty acids in rice plant suffering from rice blast disease. *Tetrah Lett.* 26:2357–2360.
15. Klich, M. A., and Pitt, J. I., 2009. Differentiation of *Aspergillus flavus* from *Aspergillus parasiticus* and other closely related species. *Trans Brit Myco Soc. Mycologia*.
16. Kumar, A., R. Ilavarasan, T. Jayachandran, M. Decaraman, P. Aravindhan, N. Padmanabhan, and M. R. V. Krishnan. 2009. Phytochemical investigation on a tropical plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India. *Pak. J. Nutr.* 8(1):83–85.
17. Lee, J. Y., Y. S. Kim, and D. H. Shin. 2002. Antimicrobial synergistic effect of linolenic acid and monoglyceride against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. *J. Ag. Food Chem.* 50:2193–2199.
18. Liu, S., R. Weibin, L. Jing, X. Hua, W. Jingan, G. Yubao, and W. Jingguo. 2008. Biological control of phytopathogenic fungi by fatty acids. *Mycopathologia* 166:93–102.
19. Metcalfe, L. D., and A. A. Schmitz. 1961. Rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatography analysis. *Anal. Chem.* 33:363–364.
20. Miura Nakatani, N. 1989. Antioxidative activity of flavonoids from thyme (*Thymus vulgaris* L). *Agric. Biol. Chem.* 53:3043–3045.
21. National Institute of Standards and Technology. 2008. *NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database*. Author, Gaithersburg, MD.
22. National Institute of Standards and Technology. 1999. *NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library*, PC Version 1.7. Perkin-Elmer Corp, Norwalk, CT.
23. Pandey, D. K., N. N. Tripathi, R. D. Tripathi, and S. N. Z. Dixit. 1982. Fungitoxic and phytotoxic properties of essential oil of *Hyptis suaveolens*. *PflKrankh PflSchutz.* 89:344–349.
24. Ramsewak, R. S., M. G. Nair, S. Murugesan, W. J. Mattson, and J. Zasada. 2001. Insecticidal fatty acids and triglycerides from *Dirca palustris*. *J. Ag Food Chem.* 49:5852–5856.
25. Reuveni, R., and M. Reuveni. 1998. Foliar fertilizer therapy—A concept in integrated pest management. *Crop Prot.* 17:111–118.
26. Rojas, T. R., C. A. F. Sampayo, B. I. Vázquez, C. M. Franco, and A. Cepada. 2005. Study of interferences by several metabolites from *Aspergillus* spp. in the detection of aflatoxigenic strains in media added with cyclodextrin. *Food Control* 16:445–450.
27. Sukumar, K., M. J. Perich, and L. R. Boobar. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: A review. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 7:210–237.
28. Velmurugan, S., K. Raman, V. Thanga Viji, M. B. S. Donio, J. Adlin Jenifer, M. M. Babu, and T. Citrarasu. 2013. Screening and characterization of antimicrobial secondary metabolites from *Halomonas salifodinae* MPM-TC and its in vivo antiviral influence on Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* against WSSV challenge. *J. King Saud Univ. Sci.* 25:181–190.

ملخص

يهدف هذا البحث إلى اقتراح حلول بديلة على أساس استعمال المواد الطبيعية "المبيدات الحشرية الطبيعية" من أجل مكافحة حفار أوراق البندورة *Tuta absoluta* (Meyrick)، و أعوان مرضية أخرى معتبرة كخطر أكيد على إنتاج الطماطم بالجزائر. سمحت لنا دراسة الدورة البيولوجية للحشرة من معرفة فترات لمراحل النمو و نسبة الوفيات لمختلف مراحل النمو متوافقة مع التاريخ و كذلك نسبة جنسية عند مكان الدراسة. الاختبارات التسممية للزيوت الطبيعية و الحلاله المائية للنباتات الثلاثة المدروسة بينت نسبة وفيات بلغت 80% لكل من L2 و L3 عند التركيز 5 مكرولتر و قدرت ب 100% وفيات ل L1 باستعمال *T. capitatus* أو *T. articulata*. تكشف النتائج عن أن الزيت الطبيعي لـ *T. capitatus* يشكل نشاط مبيد حشري، مضاد للفطريات و للجراثيم الأكثر أهمية (كبت كلي بنسبة 100% بالنسبة للغزل الفطري مع تركيز بنسبة 2µg/ml. الزيت الطبيعي لـ *T. articulata* له مفعول كيتي للغزل الفطري يفوق 41% مع تركيز بنسبة 2 ميكروغرام/مل. الزيت الطبيعي لـ *D. crinitus* هو الذي يتمتع بأقل نسبة (22%) بنفس التركيز. إن الحلاله المائية لـ *T. articulata* هي الأكثر فعالية على سلالات *Trichoderma sp.*, *A. solani* و البنسليوم *sp2*. لكن الحلاله المائية لـ *T. capitatus* مارس نشاطا رائعا كيتيا على ثلاثة مسببات مرضية: *Trichoderma sp.*, *F. oxysporum* و *Pinicillium sp1* التي كانت أكثر حساسية

الكلمات المفتاح: حفار أوراق البندورة، زيت طبيعي، نشاط مضاد للحشرات، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضاد للبكتيريا، مقاومة بيولوجية.

Abstract

This study aims to propose alternative solutions based on the use of natural products "biopesticides" to fight against the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) and other pathogens considered as serious threat for tomato production in Algeria.

The study of the biological cycle of the insect depending to mean duration of days developmental stages and mortality rate of various stages recorded to times and a sex ratio in our contry.

The tests of toxicity by oils and hydrosol for three plants allowed us to estimate the mortality rate that exceeded 80% for larvae L2 and L3 with concentration 5µL, and reach 100% mortality of larvae L1 by effet of both plant *T. capitatus* or *T. articulata*.

The results show that the essential oil of *T. capitatus* present the most important insecticidal, antifungal and antibacterial activity (total inhibition of 100% of mycelium in concentration with a 2µG / ml). The essential oil of *T. articulata* mycelium presents inhibitory effect more than 41% with a concentration of 2µg / ml. The essential oil of *D. crinitus* have the lowest activity with (22%) for the same concentration. The hydrosol *T. articulata* is more active on *F. oxysporum* strains of *A. solani* and *Pinicillium sp2*. However, the hydrosol *T. capitatus* has a remarkable inhibitory activity on three pathogens: *Trichoderma sp* *F. oxysporum* *Pinicillium sp1* and who were the most sensitive.

Keywords : *Tuta absoluta*, essential oil, insecticidal, antifungal, antibacterial, biological control.

Résumé

La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels «bioinsecticides», afin de lutter contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), ainsi que d'autres agents pathogènes considérés comme une menace sérieuse pour la production de la tomate en Algérie.

L'étude du cycle biologique de l'insecte a permis de connaître les durées de développement et les taux de mortalité des différents stades selon les dates ainsi que le sex-ratio au niveau de notre région.

Les tests de toxicité des huiles essentielles et hydrolats des trois plantes étudiées ont donné des taux de mortalité qui atteignent les 80% pour les larves L2 et L3 à une concentration de 5µL, allant jusqu'à 100% de mortalité pour les larves L1 que ce soit par l'effet *T. capitatus* ou *T. articulata*.

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *T. capitatus* présente l'activité insecticide, antifongique et antibactérienne la plus importante (inhibition totale de 100% pour le mycélium avec une concentration de 2µG/ml). L'huile essentielle de *T. articulata* présente un effet inhibiteur du mycélium dépassant 41% avec une concentration de 2µg/ml. L'huile essentielle de *D. crinitus* est celle dont l'activité est la plus faible (22%) pour la même concentration. L'hydrolat de *T. articulata* est plus actif sur les souches de *F. oxysporum*, *A. solani* et *Pinicillium sp2*. En revanche, l'hydrolat de *T. capitatus* a exercé une remarquable activité inhibitrice sur trois agents pathogènes : *Trichoderma sp.*, *F. oxysporum* et *Pinicillium sp1* qui sont les plus sensibles.

Mots clés : *Tuta absoluta*, huile essentielle, activité insecticide, activité antifongique, activité antibactérienne, lutte biologique.

