REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences Agronomiques

Spécialité : Phytopathologie

Thème : Optimisation et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles des plantes *Pistacia, Citrus* et *Mentha*

Présenté par :

• DJADOUNI Zohra

• BETTOULA Fahima

Devant le jury composé de :

Mr AIT MOUHEBN Hocine	**MCB à l'U.Y.F.M**	**Président**
Mr OULD KIAR Redha	**MCB à l'U.Y.F.M**	**Examinateur**
Mme : OUTTAR Fahima.	**MCA à l'U.Y.F.M**	**Promotrice.**
Mr. MAHDJOUBI Djillali.	**MCB à l'U.Y.F.M**	**Co-promoteur.**

Année universitaire 2022/2023

Dédicace

Avant tout, je me prosterne devant le tout puissant Allah de m'avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce travail.

Je tiens à dédier ce modeste travail

A Ma première source d'amour et de force, à savoir mes parents. A ma très douce maman, pour tous les sacrifices qu'une mère fait si fièrement pour ses enfants.

A mon très cher papa, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante.

A mes sœurs et mes frères Ibrahim ,Ada Hakima, fatma ,Fadila et Bahia sans oublier ma sœur zahia.

Aux bourgeons de famille Mohamed, Abd allah ,Ayoub ,Wissal ,Asma Bouchra „Ritaj

Au meilleur de ceux qui m'ont connu par le destin à mes chères amies

Fahima, Hakima ,Manar, Asma ,Ahlem, Youssra, Lamya, fthia, Amina.

A tous ma famille de près ou de loin.

Zohra

Dédicace

Avant tout, je me prosterne devant le tout puissant Allah de m'avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce travail. Je tiens à dédier ce modeste travail

A ma douce maman chérie, à ma mère, mon amour et la douceur de ma vie, je vous remercie du fond du cœur d'être à mes côtés à chaque instant, et je n'oublierai jamais vos prières. Que Dieu vous protège et vous accorde vous avec la santé et le bien-être

A mon très cher PAPA et mon compagnon à chaque étape de mon travail. Tu as été le soutien et le soutien pour moi tout le temps. Merci beaucoup. Je te souhaite bonne santé et bien-être de la part de Dieu

Mes chers parent , je vous dédie mon travail avec amour

je vous aime tellement

Mes soeurs Marwa et Raghad et mes frères Moad et Abed elkader Merci de vous encourager en toutes circonstances surtout Abed elkader je vous aime tellement

Atout Ma Famille

Au meilleur de ceux qui m'ont connu par le destin à mes chères amies

Wiam et Zohra

Fahima

Remerciements

Nous adressons en premier lieu mes remerciements les plus sincères à ALLAH le tout puissant qui nous donnés de la chance, la santé, le courage, la patience nécessaire pour terminer ce travail et qui nous guidé vers le savoir

Nous tenons à exprimer profondément nous reconnaissance à :

Notre promotrice OUTTAR F. sa disponibilité, ses précieux conseils et sa confiance.

Toutes nos remerciements à Mr. MAHDJOUBI et Mr KIROUANI et à tout le personnel du laboratoire de la faculté des sciences pour leur grand soutient.

Aussi à Mr CHIKHI HAMID de l'laboratoire BIOEXTRA PAMAL pour sa serviabilité, disponibilité, sa modestie, sa gentillesse et son aide.

Nous remerciements aussi à tout le personnel de l'INPV d'EL'HARACHE : Mme LEILA, Mme HIND, Mm YAMINA, Mr BELLATRECH

Et à tous ceux qui nous appris des lettres d'or et des mots de parles et des phrases les plus élevées el les plus douces de la connaissance à ceux qui ont façonné des lettres pour nos dans leur connaissance el leur pensée comme un phare illuminant le chemin de la connaissance et du succès pour nous à nous honorables professeurs

En fin, nous remerciements toute personne qui nous soutenue de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Merci à tous.

Résumé

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'activité insecticide et l'activité antimicrobienne des l'huiles essentielles des *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis* et *Mentha Spicata*. Les huiles essentiels a été obtenu par deux méthode l'extraction d'hydro distillation et entraînement par la vapeur.

Le test de l'activité insecticide sur les adultes de *Tribolium Confusum* par effet de inhalation.

Le test de l'activité antifongique sur une souche de *Fusarium* (Fusarium de blé) et de l'activité antibactérienne sur une souche bactérienne (*Erwinia Amylovora)* est basé sur la méthode de diffusion en milieu gélosé et de contact direct.

Les résultats de l'activité insecticide des l'huiles essentielles des *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis* et *Mentha Spicata* ont donné un taux de mortalité élève sur *Tribolium Confusum*

Les résultats de l'activité antifongique des l'huiles essentielles des *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis* et *Mentha spicata* ont donné un moyenne taux d'inhibition de souches de *Fusarium sp.*

les résultats montrent des l'huiles essentielles *des Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis* et *Mentha spicata* possède une activité antibactérienne possède une activité antibactérienne moyen avec des diamètres d'inhibition varie entre 7mm et12mm

Mots clés : activité antimicrobiennes, l'activité insecticide, inhibition, *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis* et *Mentha Spicata,* huile essentielle, hydrodistillation, entraînement par la vapeur.

Abstract

This study aims to evaluate the insecticidal activity and the antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis* and *Mentha Spicata*. The essential oils were obtained by two extraction methods, hydro distillation and steam distillation. The test of insecticidal activity on adults of *Tribolium Confusum* by inhalation effect. The test for antifungal activity on a strain of *Fusarium (Wheat Fusarium)* and antibacterial activity on a bacterial strain *(Erwinia Amylovora)* is based on the method of diffusion in agar medium and direct contact. The results of the insecticidal activity of the essential oils of *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis* and *Mentha Spicata* gave a high mortality rate on *Tribolium Confusum* The results of the antifungal activity of the essential oils of *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis* and *Mentha spicata* gave an average rate of inhibition of strains of Fusarium sp. the results show essential oils of *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis* and *Mentha Spicata* have antibacterial activity have average antibacterial activity with inhibition diameters varying between 7mm and 12mm

Key words: antimicrobial activity, insecticidal activity, inhibition, *Pistacia Lentiscus*, *Citrus Sinensis* and *Mentha Spicata*, essential oil, hydrodistillation, steam distillation.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نشاط المبيدات الحشرية والنشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية من *Pistacia Lentiscus* و *Citrus sinensis* و *Mentha spicata*. تم الحصول على الزيوت الأساسية بطريقتين ، التقطير المائي والتقطير بالبخار.

اختبار نشاط المبيدات الحشرية على البالغين من *Tribolium confusum* عن طريق الاستنشاق.

يعتمد اختبار النشاط المضاد للفطريات على سلالة (*Fusarium (Wheat Fusarium* والنشاط المضاد للبكتيريا على سلالة بكتيرية (Erwinia amylovora) على طريقة الانتشار في وسط أجار والاتصال المباشر.

أظهرت نتائج نشاط المبيدات الحشرية للزيوت الأساسية من *Pistacia Lentiscus* و *Citrus sinensis* و *Mentha spicata* معدل وفيات مرتفع على *Tribolium confusum*

أعطت نتائج النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية من *Pistacia Lentiscus* و *Citrus sinensis* و *Mentha spicata* معدلًا متوسطًا لتثبيط سلالات *Fusarium sp*.

أظهرت النتائج أن الزيوت الأساسية من *Pistacia Lentiscus* و *Citrus sinensis* و *Mentha spicata* لها نشاط مضاد للجراثيم متوسط مع أقطار تثبيط تتراوح بين 7 مم و 12 مم

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للميكروبات ، نشاط المبيدات الحشرية ، التثبيط ، *Pistacia Lentiscus*، *Citrus sinensis* و *Mentha spicata* ، الزيت العطري ، التقطير المائي ، التقطير بالبخار.

Sommaire	
DEDECACES	
REMERCIMENT	
RESUME	
SOMMAIRE	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE d'abréviation	
1.Introduction générale	**1**
Chapitre I : Synthèse bibliographiques	**3**
Partie I : Données bibliographiques sur les plantes étudiées	**4**
I . Le pistachier lentisque Pistacia lentiscus L	**4**
I.1. Introduction	**4**
I.2. Classification	**4**
I.3. Description botanique	**5**
I.4. Aire de répartition de l'espèce	**5**
I.5. Utilisation médicinale	**7**
I.6. Composition chimique	**7**
Les métabolites primaires	**7**
. Les acides gras	**7**
. Les métabolites secondaires	**7**

II. *Citrus sinensis*	***7***
II.1. Introduction	**7**
II.2Classification	**8**
I.3. Origine et répartition géographique	**8**
I.4. Description botanique	**9**
II.5. Composition chimique	**10**
II.6. Utilisations traditionnelles	**10**
III. La menthe verte Mentha spicata	***10***
III.1. Introduction	**10**
III.2. Classification	**11**
III.3. Origine et répartition géographique	**11**
III.4. Description botanique	**12**
III.5. Les Composés chimiques	**13**
III.6. *M. spicata L.* dans les médecines traditionnelles	**13**
Partie II : Données bibliographiques sur le ravageur étudié	**14**
Tribolium confusum	**14**
IV.1. Introduction	**14**
IV.2. Classification et Position systématique	**14**
IV.3. La morphologie	**14**
IV.4. Cycle biologique	**15**
IV.5. Origine et répartition géographique	**17**
IV.6. Régime alimentaire et dégâts causés par *T. confusum*	**17**
IV.5.1. Régime alimentaire	**17**

IV.6.2. Les dégâts	**18**
IV.7. Les moyens de lutte contre le *Tribolium confusum*	**18**
IV.7.1. Les méthodes traditionnelles	**18**
IV.7.1.1. Enfumage	**18**
IV.7.1.2. Exposition au soleil	**18**
IV.7.1.3. Utilisation de plantes répulsives	**18**
IV.7.2.1. Lutte biologique	**18**
IV.7.2.2. La lutte biotechnologique	**19**
Partie III: Données bibliographiques sur les Micro-organismes	**19**
V.1. La souche bactérienne	**19**
V.2. Classification	**19**
V.3.La morphologie	**19**
V.2. La souche fongique	**20**
V.1. Généralité	**20**
V.2.Classification	**20**
V.3. Les symptômes	**21**
V.4. Mécanisme d'infection fongique par le Fusarium	**22**
Chapitre II	**24**
I-Matériel	**25**
I.1. Matériels Animal	25
I.2.Matériel végétal	**25**
I.3.Matériel microbiologique	**26**
I.3.a. Souche bactérienne	26
I.3.a. Souche bactérienne	26

I.4.Matériel non biologique	27
II. Méthodes	**27**
II .1. Screening phytochimique des plantes étudiées	27
II.1. 1.L'étude phytochimique	**27**
II.1. 2 Préparation de l'infusé	27
II.3.Protocol expérimental	**28**
II.4. Extraction par entrainement à la vapeur (EV).	**28**
II.2. Activité insecticide	**30**
I. **II.2.1. Élevage des insectes**	30
II.2.2.Evaluation de l'effet par inhalation des huiles essentielles sur *Tribolium confusum*	***31***
II.2.4.Test répulsive	31
III.1.Activité anti-microbienne	**32**
III.1.2.Isolement et identification du matériel bactériologique	32
III.1.2. 1.Préparation de milieu de culture et les réactifs	**32**
III.1.2.2.Préparation de milieu de culture L.P.G.A et NAS	**32**
III.1.3. - Préparation de l'échantillon:	**33**
III.1.4. Préparation d'échantillon symptomatique:	**33**
III.1.3. Isolement sur différents Milieux de culture :(LPGA et LEVANE et milieu de Hugh et Leifson)	34
a- Etalement sectoriel:	**34**
b- Etalement en nappe :	**34**
c- Purification :	34
III.2. Tests d'orientations ou tests biochimiques :	**34**

IV.Activité anti-bactérienne des huiles essentilles	**38**
IV.1. Protocole expérimental	**38**
IV.1.1. Ecoulement de milieu de culture dans des boites de pétri	**38**
VI.1.2.Préparation de l'inoculum	**38**
IV.1.3. Ajustement des titres de l'inoculum	39
IV.1.4. Préparation des disques	**40**
IV.1.5. Ensemencement des boites de pétri préparées	40
IV.1.6.Incubation des boites	**40**
IV.1.7.Lecture	**41**
IV.1.8. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) pour les huiles essentielles à tester	**41**
IV.1.9. Tests antibactériens	**41**
V. Activité anti fongique des huiles essentielles	**42**
V.1.Préparation du milieu de culture	**42**
V.2. Préparation d'eau agar-agar	43
V.3.Analyse de l'activité antifongique des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de l'isolat de *Fusarium* spp	**43**
V.4. Préparation des émulsions des huiles essentielles	**44**
V.5. Technique de contact direct	**45**
V.6. Lecture des résultats	**45**
V.7. Analyse statistique	46
Les Résultats	47
I.1. L'étude phytochimique	**48**
II.1. Effet insecticide des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis et*	***48***

Mentha spicata	
II.1.1. Effet insecticide de l'huiles essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum*	**48**
II.1.2. Effet insecticide de l'huiles essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum*	49
II.1.3 Analyse de la variance de l'efficacité de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* **sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses**	51
II.1.4Analyse de la variance de l'efficacité de *Citrus sinensis* l'huile essentielle de sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses	52
II.1.5.Analyse de la variance de l'efficacité de l'huile essentielle de *Mentha spicata* **sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses**	53
II.1. 6. Analyse de la variance de l'efficacité des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses à 48h et 96h	**54**
II.1.6 Détermination des DL50	**55**
II.1.7. Efficacité des trois huiles essentielles vis-à-vis les adultes de *T. Confusum*	**55**
III. Activité anti-microbienne des huiles essentielles	**57**
III.2.1. Activité antifongique des huiles essentielles	**57**
III.2.1.1. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur *Fusarium* spp	**57**
III.2.1.2. Activité antifongique de l'huile essentielle de *pistacia lentiscus* sur *Fusarium spp*	***57***
III.2.1.3. Activité antifongique de l'huile essentielle de *citrus sinensis* sur *Fusarium spp*	58
IV. Préparation de la souche bactérienne	58
IV.1. La revivification et repiquage de la souche bactérienne	**58**

IV .2. Identification de la souche bactérienne étudiée	**61**
IV.3. Evaluation de l'activité antibactérienne in *vitro* des huiles essentielles testées	**62**
IV.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle de *citrus sinensis*	***62***
IV.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle de *pistacia lentiscus*	**62**
IV.3.3. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle *mentha spicata*	**63**
IV.4. Evaluation de la concentration minimal d'inhibition CMI pour E.A traités par les trois huiles essentielles	**63**
IV.5. Effet de l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur le développement D'*e.Amylovora*	**63**
V. Discussion	**66**
V.1.1. Screening phytochimique	**66**
V.1.2. Effet des trois huiles essentielles sur le la mortalité des adultes de *tribolium confusum*.	66
V.1.3. Effet des trois huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Fusarium sp*	**67**
V.1.4. Effet des trois huiles essentielles sur *Erwinia amylovora*	**68**
IV. Conclusion	**70**
Références	**73**
Annexe	**79**

Liste des tableaux

Tableau 01 : protocole expérimental de scrinnig phytochimique……29

Tableaux 02 : la Concentration de les huiles essentielles à tester……..42

Tableau 03 : Screening phytochimique des plantes étudiées…… ……48

Tableau 4 : effet de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusm* à dose D1…….51

Tableau 5 : effet de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum à* dose D2…….52

Tableau 6 : effet de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum à* dose D3…….52

Tableau 7 : effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* à dose D1…….52

Tableau 8 : effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* à dose D2……..53

Tableau 9 : effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* à dose D3…….53

Tableau 10 : effet de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* à dose D1…….53

Tableau 11 : effet de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* à dose D2…….54

Tableau 12 : effet de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* à dose D3…….54

Tableau 13 : Effet des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses à 48 h……54

Tableau 14 : Effet des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses à 96 h……55

Tableau 01 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium confusum* traité à l'huile essentielle de Mentha spicata par inhalation…….80

Tableau 02 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium confusum* traité à l'huile essentielle de Pistacia lentiscue par inhalation…….80

Tableau 03 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium confusum* traité à l'huile essentielle de citrus sinensis par inhalation…….81

Tableaux 04 : Activité antifongique des huiles essentielles de *mentha spicata* sur *Fusarium spp……81*

Tableaux05 : Activité antifongique des huiles essentielles citrus sinensis sur *Fusarium spp*.83

Tableaux 06 : Activité antifongique des huiles essentielles de *pistacia lentiscue* sur Fusariumspp……..83

Tableaux 07 : effet des huiles essentielles de *pistacia lentiscue* sur la bactérie *Erwinia amylovora……83*

Tableaux8 : effet des huiles essentielles de *mentha spicata* sur la bactérie *Erwinia amylovora*……83

Tableaux 9 : effet des huiles essentielles de sur *citrus sinensis* la bactérie *Erwinia amylovora……83*

Tableau 10 : Efficacité de *citrus sinensis* vis -vis des adultes de *T. confusum*……84

Tableau 11 : Efficacité de *mentha spicata* vis -vis des adultes de *T. Confusum*……84

Tableau 12 : Efficacité de *pistacia lentiscue* vis -vis des adultes de *T. confusum*……84

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Figure 1Pistacia lentiscus M.BAMMOU 2015……4

Figure 2: pistacia lentiscus : a. fleurs, b. feuilles, c. fruits , d.Résine CHAABANI2019)….5

Figure 3: L'aire de répartition du genre pistacia (Belfadel,2009)……6

Figure 4: L'origine et la dispersion des agrumes d'après (ollitrault .et al .2003)…….9

Figure 5: Menthe verte Mentha spicata L. (Amina BENABDALLAH 2017)……11

Figure 6: Feuilles de Mentha spicata (BAUDRIN ,2015)……..12

Figure 7: Fleur de Mentha spicata (BAUDRIN ,2015)……12.

Figure 8: Les oeufs de T. confusum (G×40)……..15

Figure 9: La larve de T. confusum (G×40)……..16

Figure 10: La nymphe de T.confusum (G×40).originle ……16

Figure 11: L'adulte de T. confusum (G×40). Original……17

Figure 12: Dégâts de T. confusum sur la semoule fine (Originale)……18

Figure 13: Brulure des feuilles, fleurs, rameaux et fruits……20

Figure 14: des symptômes de fusariose de l'épi……..22

Figure 15 : adulte de Tribolium confusum……25

Figure 16: feuille de Menthe séchée (originale2023)……...26

Figure 17: feuille de Citrus fraiche (originale2023)……26

Firgue 18: feuille de Pistacia fraiche(originale2023)…….26

Figure 19: Fusarium spp (originale2023). …….. 26

Figure20: Erwinia amylovora(originale2023)…….26

Figure 21 : Les étapes de préparation de l'infusé (originale 2023)……28

Figure 22 : Schéma du montage d'entraînement à la vapeur d'eau Tassadit ISSAADI-HAMITOUCHE (2016)……31

Figure 23: Elevage en masse de tribolium sur la semoule fine (Originale2023)……31

Figure 24: Test d'inhalation effectué sur les adultes de T. confusum traités par différentes doses d'huiles essentielles. (25µl, 50µl, et 75µl) (Originale, 2023)……50

Figure 25: Test répulsif (originale 2023)……52

Figure26: Test d' Hugh & Leifson (HL)……55

Figure 27: Test d'Oxydase……56

Figure 28: Test de Catalase……57

Figure29 : les étapes de préparation de l'inoculum (originale 2023)……..58

Figure 30 : Dénombrement des cellules bactériennes (originale2023)……..59

Figure 31: Dépôt de disque (originale2023)……60

Figure 32: les étapes de préparation du milieu de culture PDA. (Originale2023).63

Figure 33: Préparation de l'eau agar(originale)……63

Figure 34 : Préparation des émulsions des huiles essentielles ……..64

Figure 35 : Application des disque sur les milieu PDA et scéllées après incubée.65

Figure36: Activité insecticide de l'huile essentielle de Pistacia lentiscus dose (D1 D2 D3: 25 µl; 50 µl et 75 µl) sur le Tribolium confusum……..68

Figure37: Activité insecticide de l'huile essentielle de Citrus sinensis dose (D1 D2 D3: 25 µl; 50 µl et 75 µl)sur le Tribolium confusum……69

Figure38: Activité insecticide de l'huile essentielle de Mentha spicata dose (D1 D2 D3: 25 µl; 50 µl et 75 µl)sur le Tribolium confusum……..69

Figure 39 : Efficacité de l'huile essentielle de Citrus sinensis vis-à-vis des adultes de T. Confusum……74

Figure 40 : Efficacité de l'huile essentielle de Mentha spicata vis-à-vis des adultes de T. Confusum……75.

Figure 41 : Efficacité de l'huile essentielle de Pistacia lentiscue vis-à-vis des adultes de T. Confusum……..75

Figure42: Effet de la concentration d'huile essentielle de mentha spicata sur la croissance mycélienne……76

Figure44: Effet de la concentration d'huile essentielle de pistacia lentiscus sur la croissance……76

Figure 45: Aspect macroscopique des colonies la souche Erwinia amylovora…78

Figure 46: résultat obtenue de teste KOH (positif) (Gram-)…….78

Figure 47: résultat obtenue de test d'Hugh et Leifson……..79

Figure 48: teste d'oxydase (négatif)…….79

Figure 49: Les colonies de Erwinia amylovora……..80

Figure 50: Taste de catalase (positif)…….80

Figure 51: Test d'hypersensibilité sur Tabac (positif)…….80

Figure 52 : effet d'huile essentielle citrus sinensis sur Erwinia amylovora après 72h.81

Figure 53 : effet d' huiles essentielle pistacia lentiscus sur Erwinia amylovora après 72h..82

Figure 54 :effet d'huile essentielle mentha spicata sur Erwinia amylovora après 72h……82

Figure 55: Effet de l'huile essentiel de mentha spicata sur le développement d'E. amylovora…….83

Figure56 : Effet de l'huile essentiel de Pistacia lentiscus sur le développement d'E.amylovora……..83

Figure57: Effet de l'huile essentiel de citrus sinensis sur le développement d'E. amylovora.84

LISTE d'abréviation

FsB : Fusarium de blé

H.E : huile essentielle.

HR : Hypersensibilité

IC : inhibition de croissance mycélienne.

PDA: Potato Dextrose Agar

D: Dose

KOH : hydroxyde de potassium.

L.P.G.A: Levure. Peptone. Glucose. Agar

NAS:Agar nutritive Saccharose

HL: Hugh & Leifson

EA: *Erwinia amylovora*

PL : *Pistacia. Lentiscus*

UFC : Unité Formatice de Colonie

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

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

Introduction

Introduction

Le blé demeure céréale la plus consommée de façon directe par les hommes dans le monde et la plus échangée sur les marchés internationaux .Les installations de minoterie se composent généralement de différentes composantes, y compris la réception et le stockage du grain, la mouture et les arènes de transformation et les entrepôts d'emballage et d'expédition. La disponibilité constante des grains entiers et les produits moulus offrent d'excellents sites d'alimentation et de ponte pour de nombreux ravageurs des grains entreposés. *Tribolium confusum* (Coleoptera : Tenebrionidea), est l'un des ravageurs les plus importants dans les minoteries et partout où les produits céréaliers et autres aliments séchés sont transformés ou entreposés. *T. confusum* peut avoir un impact économique dans une minoterie en alimentant, en endommageant et en contaminant les produits, ce qui peut entraîner le réajustement et le rejet des marchandises, la perte de la clientèle et le non-respect des exigences réglementaires en matière de aliments frelatés (**Min Liao et *al* ;2019).**

Les huiles essentielles d'origine végétale et leurs principaux composants, souvent divers monoterpénoïdes, sont parmi les substances les plus connues à avoir attiré l'attention ces dernières années en tant qu'agents potentiels de lutte antiparasitaire en raison de leurs propriétés insecticides, répulsives et antimicrobienne pour les microorganisme bactéries et champignons (**D.C. Stamopoulos ;2007).**

Les huiles essentielles végétales, les métabolites secondaires des plantes, ont été extraites et utilisées comme pesticides naturels, régulateurs de croissance, répulsifs et inhibiteurs. Le l'efficacité de ces composés dépend de la méthode d'essai, de l'espèce de ravageur cible et de la nature bioactive spécifique. Constituants, qui sont potentiellement des produits alternatifs pour lutter contre les ravageurs des denrées stockée. Des études ont montré que les huiles essentielles de plantes étaient efficaces pour contrôler *T. Confusum*, compris les huiles de Nepeta, cinq espèces d'agrumes de la famille des Rutacées Carum et Tamarix boveana. D'autres études ont rapporté que les principaux constituants tels que le limonène dans les huiles essentielles avaient une action insecticide élevée. Activité *contre T. confusum.* Dans nos travaux précédents, nous avons montré que L'huile essentielle de la et son principal, avaient une activité insecticide élevée sur *T. confusum* **Min Liao et ; al (2019).**

Plusieurs *Fusarium spp*. Sont d'importants champignons phytopathogène causant d'énormes pertes économiques dans l'agriculture en raison des dommages aux cultures dans le monde entier. Par conséquent, ces champignons contribuent aux problèmes médicaux les plus

graves de l'humanité, à savoir la faim et la dénutrition. En effet, certains *Fusarium spp*. Peut infecter les céréales à petits grains (blé, orge et avoine) (par exemple, Fusarium graminearun) et le maïs (par exemple, *Fusarium verticillioides* (**Herbert Hof 2020).**

Erwinia amylovora, une bactérie Gram négative de la famille des Enterobacteriaceae, est l'agent causal du feu bactérien, une maladie végétale dévastatrice affectant un large éventail d'espèces hôtes au sein des Rosaceae et une menace mondiale majeure pour la production commerciale de pommes et de poires, et, récemment, a été inclus dans le top 10 des bactéries phytopathogènes (**Núria Piqué et *al* ;2015)**

Le présent travail comprend trois chapitres. Le premier portera sur les données bibliographiques sur les plantes pistacia, menthe et citrus, sur les insectes des denrées stockée et le champignon phytopathogènes, le bactérien. La seconde porte sur le matériel et les méthodes de travail adoptés. Le troisième est consacré aux résultats et discussions sur :

- Effet des huiles essentielles de pistacia, mentha et citrus sur *Tribolium confusum*

- Effet des huiles essentiels des pistacia, mentha et citrus sur le feu bactérien *Erwinia amylovora*

- Effet des huiles essentiels des pistacia, mentha et citrus sur et le champignon phytopathogènes *Fusarium spp*.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Partie I : Données bibliographiques sur les plantes étudiées

I. Le pistachier lentisque *Pistacia Lentiscus L*

I.1. Introduction

Pistacia lentiscus L. est un arbuste persistant de la famille des Anacardiaceae. Cette espèce dioïque peut atteindre 3 m hauteur et pousse dans les zones arides. **(Charef,2008)**. D'origine asiatique ou méditerranéenne, le pistachier lentisque est un arbrisseau vivace (Figure 1) de trois mètres de hauteur, ramifié et à odeur de résine fortement âcre. **(Khiari, 2016)**



Figure 1*Pistacia lentiscus* (BAMMOU, 2015).

I.2. Classification

L'espèce *Pistacia Lentiscus L.* ou communément appelé Lentisque ou 'Dhrou'

Appartient au : En 1883, Engler a proposé la première monographie du genre Pistacia formée par huit espèces : *P. lentiscus, P. khinjuk, P. mutica, P. mexicana, P. terebinthus P. chinensis, P. vera,et P. atlantica,* **cité par (CHAABANI, 2019)**

- Règne : *Plantae*

- Embranchement : *Spermaphyte*

- Sous-embranchement : *Magnoliophyta ou Angiospermes*

- Classe *:* *Magnoliopsida ou Eudicots*

-Ordre : *Sapindales*

- Famille : *Anacardiaceae*

- Genre : *Pistacia L (pistache)*

- Espèce : ***Pistacia Lentiscus***

I.3. Description botanique

Le genre botanique pistacia (les pistachiers) regroupe neuf espèces d'arbustes appartenant à la famille des Anacardiacées **(Khiari,2016).** Est un arbuste à feuilles persistantes respectueux de l'environnement La plante est dioïque, où les fleurs mâles et femelles sont sur des arbres indépendants. Les feuilles sont coriaces, vert clair et alternes **(Egle,2011).**

Pistacia lentiscus est un nanophanérophyte de 1 à 3 m Elle est caractérisée par :

- Une odeur résineuse forte,
- Des feuilles persistantes formées par 4 à 10 folioles de couleur vert foncé,
- Des fleurs aromatiques, unisexuées. Les fleurs mâles sont caractérisées par une couleur rouge foncé tandis que les fleurs femelles sont de couleur vert jaunâtre. La floraison s'étend du mois d'avril au mois du juin ;
- Des fruits en forme de baies globuleuses, d'abord rouge et deviennent noire e automne quand ils arrivent à maturité ;
- La production de résine jaune clair (entre 4 à 5 kg par arbre) appelée 'le mastic' qui est obtenue en été par incision du tronc. La distillation de cette résine permet l'extraction d'une essence utilisée en parfumerie **(CHAABANI,2019)**



Figure 1:*Pistacia Lentiscus* : a. fleurs, b. feuilles, c. fruits , d.Résine CHAABANI2019).

I.4. Aire de répartition de l'espèce

Le lentisque est un arbrisseau particulièrement représentatif des milieux les plus chauds que l'on trouve couramment en sites arides d'Asie et de la région méditerranéenne d'Europe et d'Afrique jusqu'aux Canaries, En Algérie, les arbres du lentisque s'étendent sur

une vaste zone géographique, allant du littoral aux zones arides **(Khiari, 2016)** illustrée dans la figure ci-dessous :

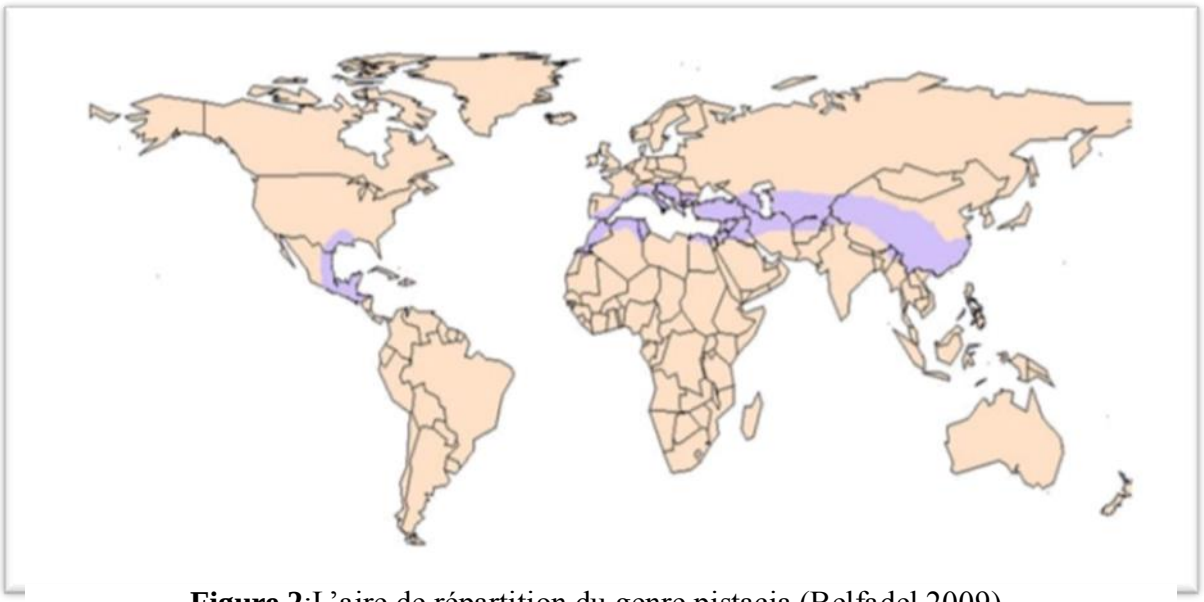


Figure 2:L'aire de répartition du genre pistacia (Belfadel,2009).

I.5. Utilisation médicinale

- Les résultats de l'enquête ont démontré que l'extrait de feuille de *P. Lentiscus* a des propriétés hypocholestérolémiques et pourrait être utilisé pour la prévention des troubles associés à l'hypercholestérolémie
- *P. Lentiscus* a une longue tradition dans la datation de la médecine populaire du temps des anciens Grecs. Il est utilisé dans l'eczéma traitement, paralysie, diarrhée, infection de la gorge, troubles rénaux calculs, la jaunisse, l'asthme et les maux d'et linoléique estomac, et comme astringent, anti-inflammatoire, antipyrétique, antibactérien. Les fruits de *P. lentiscus* donnent une huile alimentaire riche en acides gras insaturés comme oléique et linoléique
- En Algérie l'huile du fruit est utilisée par les populations en médecine traditionnelle à bien des égards, en tant qu'anti-diarrhéique
- En outre, la résine du pistachier lentisque est reconnue en tant qu'agent
- Anti-cancéreux, elle est plus particulièrement utilisée contre les tumeurs du sein, du foie, de la rate, de l'utérus et aussi de l'estomac.

- Alors que le les huiles des feuilles et des brindilles ont montré une activité contre les bactéries et était complètement inactif contre les champignons **(Benhammou et *al*., 2008)**

I.6. Composition chimique

I.6.1. Les métabolites primaires

Le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés Indispensables à la croissance et au développement de la plante. Les métabolites primaires qui en proviennent ont donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux (acides aminés et protéines, acides gras, sucres et polysaccharides…). Dans ce travail nous nous sommes intéressés aux acides gras de *Pistacia Lentiscus.*

I.6.2. Les acides gras

Les fruits matures de *P. Lentiscus* produisent une huile végétale caractérisée par sa richesse en acides gras monoinsaturés. Ces derniers présentent 53% des acides gras totaux.

I.6.3. **Les métabolites secondaires**

Le métabolisme secondaire regroupe les voies de synthèse de composés qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante. Les métabolites secondaires interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...)

Les terpénoïdes : (Les monoterpenoïdes et les sesquiterpenoïdes, Les diterpenoïde Les triterpenoïdes), Les stérols, Les composés phénoliques, Les alcaloïdes **(CHAABANI, 2019)**

II. *Citrus sinensis*

II.1. Introduction

Citrus Sinensis connu sous le nom d'orange douce, est un arbuste fruitier appartenant à la famille des Rutaceae qui est largement cultivé dans le monde entier en raison de sa valeur nutritive, de ses attributs nutraceutiques et de son importance économique .

Largement cultivé dans le monde entier en raison de sa valeur nutritive, de ses attributs nutraceutiques et de son importance économique. L'huile essentielle (HE) se trouve principalement dans les pelures, les feuilles et les fleurs de la plante. Il s'agit d'un Il s'agit d'un type de produit naturel ayant une valeur économique fondamentale et une demande

importante sur le marché, largement utilisé dans les arômes, les parfums, la médecine et d'autres domaines **(Kammouna, 2021).**

II.2. Classification

Classification botanique des oranges **(Bouderbala, 2020)**

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Sapindales*

Famille : *Rutaceae*

Sous famille : *Aurantoideae*

Tribu : *Citreae*

Sous tribu : *Citrinae*

Genre : *Citrus*

Espèce : *Sinensis*

I.3. Origine et répartition géographique

Les oranges sont probablement originaires du sud-est de l'Asie et ont été cultivées en Chine dès 2500 av. Aujourd'hui, elle est cultivée presque partout dans le monde comme source d'alimentation pour les humains en raison de ses valeurs nutritionnelles élevées, source de vitamines et autres utilisations**. (Etebu, et *al*.2014)**

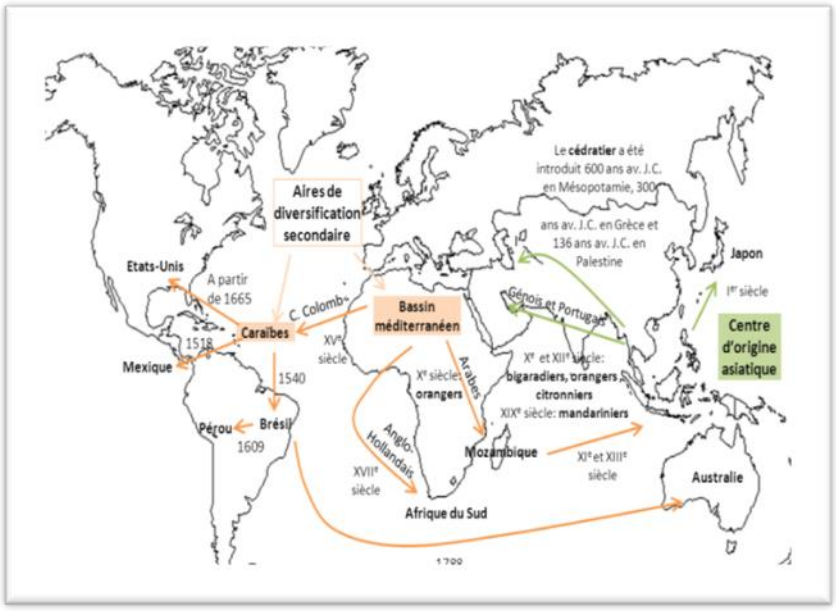


Figure 3:L'origine et la dispersion des agrumes d'après (ollitrault et al 2003).

I.4. Description botanique

Solon **(Juan et ; *al* ,2016)** *C. sinensis* est un arbre à fleurs persistantes. La hauteur des orangers est généralement de 9 à 10 m, avec de grandes épines sur les branches.

❖ Les feuilles

Sont alternes, avec des pétioles étroitement ailés (3-5 mm de large, 6,5-15 cm de long) ; la forme des lames

Elliptique, oblongue à ovale, à dents émoussées, et elles dégagent une forte odeur caractéristique d'agrumes, due à la présence d'une huile abondante. D'agrumes caractéristique due à la présence d'une huile abondante

❖ Les fleurs

Sont axillaires, portées seules ou en verticilles de 6 (5 cm de large). Avec cinq pétales blancs et 20-25 étamines jaunes.

❖ Le fruit

Peut-être globuleux ou ovale (6,5 à 9,5 cm de large). Et mûrit pour devenir orange ou jaune. D'un point de vue anatomique, le fruit se compose de deux régions distinctes, le péricarpe également appelée pelure, peau ou écorce, et l'endocarpe ou pulpe avec les glandes du sac à

jus. La peau est constituée d'un épiderme de cire épicuticulaire avec de nombreuses petites glandes à huile aromatique qui lui donnent son odeur particulière.

II.5. Composition chimique

C. sinensis est une riche source de métabolites secondaires qui contribuent aux activités pharmacologiques attribuées à cette plante.

Plusieurs types de composés chimiques ont été identifiés dans les fruits, l'écorce, les feuilles, le jus et les racines de C. sinensis, dont les groupes suivants : flavonoïdes 1-54, stéroïdes 55,56, hydroxyamides, alcaloïdes et acides gras 57-60 coumarines 61-67, peptides

68-70, hydrates de carbone 71-74, carbamates et alkylamines 75-78, caroténoïdes 79-82

Composés volatils 83-148, et des éléments nutritionnels tels que le potassium, le magnésium, le calcium et le sodium (**Juan et *al* , 2016)**

II.6. Utilisations traditionnelles

C. sinensis est consommé dans le monde entier comme une excellente source de vitamine C, un puissant antioxydant naturel qui renforce le système immunitaire de l'organisme.

Il est traditionnellement utilisé

Pour traiter des affections telles que la constipation, les crampes, les coliques, la diarrhée, la bronchite, la tuberculose, la toux, le rhume, l'obésité, les troubles menstruels, l'angine de poitrine, l'hypertension, l'anxiété, la dépression et le stress.**(Juan et ; *al* ,2016)**

III. La menthe verte Mentha spicata

III.1. Introduction

Mentha spicata L. (Lamiaceae), communément appelée menthe verte, est sauvagement cultivée dans le monde entier pour son arôme remarquable et sa valeur commerciale. En plus d'être un agent aromatique traditionnel pour les aliments, *M. spicata* est bien connue pour ses utilisations médicinales traditionnelles, en particulier pour le traitement du rhume, de la toux, de l'asthme, de la fièvre, de l'obésité, de la jaunisse et des problèmes digestifs. **(Mahendran ,2021)**



Figure 4:Menthe verte *Mentha spicata L*. (BENABDALLAH 2017).

III.2. Classification

la systématique de Mentha spicata L. **(Mahendran,2021)**

Règne : *Les plantes*.

Embranchement : *Spermatophyta*.

Sous-embranchement : *Angiospermes.*

Classe : *Dicotylédones*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae.*

Genre : *Mentha*.

Espèce : *Mentha spicata L.*

III.3. Origine et répartition géographique

Mentha spicata (Lamiaceae) est une plante aromatique vivace qui a été répandue en Europe, en Afrique, en Australie et en Amérique du Nord. **(Barij ,2017)**

Elle est aujourd'hui retrouvée partout dans le monde, d'ailleurs elle est parfois considérée

Comme envahissante. **(BAUDRIN ,2015).**

III.4. Description botanique

Solon **(BAUDRIN ,2015).**

❖ **Feuilles**

Les Feuilles est habituellement vert profond sur les deux faces mais les jeunes feuilles sont généralement plus claires. Les feuilles sont gaufrées, sub-sessiles, ovaleslancéolées ou oblongues-lancéolées, de 4 à 9 cm de longueur. Elles sont fortement dentées en scie, pointues et sans poil.



Figure 5:Feuilles de *Mentha spicata* (BAUDRIN ,2015).

❖ **La fleur**

Les fleurs sont petites, blanchâtres à mauve, et forment des épis terminaux étroits et pointus.

Elles sont zygomorphes et hermaphrodites. Les épis sont peu

denses, longs, grêles et discontinus (par étage, espacés les uns des autres). Elles fleurissent de juillet à octobre



Figure 6:Fleur de *Mentha spicata* (BAUDRIN ,2015).

III.5. Les Composés chimiques

Les espèces de Mentha sont riches en polyphénols dérivés, l'acide cinnamique, l'acide férulique et l'acide oléanolique.

Les flavonoïdes dont la lutéoline et ses dérivés l'apigénine, l'acétine, la diosmine, la salvigénine et la thymonine, ont également été détectés dans ces plantes, représentant quelque 10 à 70 composés sur les phénoliques totaux, ainsi que des flavanols tels que la catéchine, l'épicatéchine et les coumarines, y compris l'esculetin et la scopolétine, ont également été détectés dans ces plantes**. (Tafrihi et, *al* ,2021)**

III.6. *M. spicata L.* dans les médecines traditionnelles

- utilisée fraîche ou sous forme de feuilles séchées ou de poudre, comme assaisonnement et aromate, ou traditionnellement comme tisane.

- Elle est couramment utilisée dans les médecines traditionnelles comme remède aux problèmes gastro-intestinaux et respiratoires. En outre, l'huile essentielle de menthe verte présente un intérêt économique en raison de son utilisation en parfumerie, en confiserie et dans les préparations pharmaceutiques.

- Outre ses propriétés aromatiques, la menthe verte est également largement utilisée comme agent antimicrobien et comme conservateur dans les aliments, principalement en raison de sa teneur en composés phénoliques et terpénoïdes **(Cirlini ,2016).**

- utilisé dans la médecine populaire pour le traitement de la bronchite, des nausées, des flatulences, de l'anorexie et des troubles hépatiques, anorexie

- ont été utilisés comme antidiarrhéiques. **(Barij, 2018).**

Partie II : Données bibliographiques sur le ravageur étudié

Tribolium confusum

IV.1. Introduction

Tribolium confusum (*Coleoptera : Tenebrionidea*), est l'un des ravageurs les plus importants dans les minoteries et partout où des produits céréaliers et d'autres produits séchés sont stockés. **(Liao ,2019)**

IV.2. Classification et Position systématique

Selon **(Lepesme, 1944),** cet insecte ravageur occupe la position systématique :

Règne : Animalia

Embranchement *: Arthropoda.*

Sous-embranchement : *Hexapoda*

Classe : *Insecta.*

Ordre *: Coleoptera.*

Famille : *Tenebrionidae.*

Sous Famille : *Ulominae.*

Genre : *Tribolium.*

Espèce : *Tribolium confusum (Duval)*

Nom français : *Tribolium brun de la farine*

Nom anglais : *Confused Flour Beetle*

Nom en arabe : خنفساء الطحين المتشابهة

IV.3. La morphologie

Le *Tribolium* Le coléoptère adulte est un petit insecte de 2,2 à 4,4 mm de long, avec un corps allongé brun rougeâtre vif et un appendice pronotum nettement élargi à l'apex. Les tentacules se terminent par une massue de cinq éléments. Cet insecte est morphologiquement très proche de *Tribolium castaneum* (tribolium rouge de la farine) **(Lepesm, 1944).**

Chez *Tribolium confusum*, les tiges antennaires deviennent progressivement plus grandes et l'espace entre les yeux est plus large (environ 50% de la largeur de la tête). Il n'y a que deux facettes au point le plus étroit de l'œil. Les yeux sont oblongs avec une taille moyenne de 0,6 x 0,3 mm. Ils sont blancs et presque transparents. Ils sont recouverts d'une substance collante qui leur permet d'adhérer aux aliments infectés **(Lepesm, 1944).**

IV.4. Cycle biologique

Le cycle de vie de *Tribolium confusum* comprend quatre stades distincts œuf, larve, pupe et adult. **(Benoit et, *al.*, 1996).**

- **L'oeuf**

Il est de forme ovale, de couleur blanche et presque transparent. Il a une surface lisse, recouverte d'une substance collante qui lui permet d'adhérer aux aliments infectés, et a une taille moyenne de 0,6 x 0,3 mm **(Lepesm, 1944).**



Figure 7:Les oeufs de *T. confusum* (G×40).

- **La larve**

stades larvaires de tailles et de couleurs différentes, avec une tête plus foncée et des appendices fourchus situés à l'extrémité de l'abdomen, une particularité qui permet de distinguer les larves et pupes de *Tribolium* de celles des autres coléoptères. qui infestent les céréales.

(Le Pesmé, 1944)



Figure 8:La larve de *T. confusum* (G×40).

❖ **Nymphe**

Les segments de son abdomen sont explantés Latéralement en lames rectangulaires à bords crénelé, elle est blanche et nue. La nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer**. (Balachowsky, 1936).**



Figure 9:La nymphe de *T.confusum* (G×40) .

❖ **Adulte**

durcies et colorées 2 à 3 jours après l'émergence. La couleur vire au brun rougeâtre, sa taille atteint 3-4 mm. Ces élytres allongés sont parallèles et arrondis à l'arrière, avec des lignes de ponctuation régulières séparées par des côtés très fins **(Lepesme, 1944).**

Les 3 paires de pieds sont courtes, avec 5 segments chacun dans le tarse antérieur et le tarse moyen, et 4 segments dans le tarse postérieur.



Figure 10:L'adulte de *T. confusum* (G×40). Original.

IV.5. Origine et répartition géographique

L'aire de répartition de *T. confusum* est très vaste à travers le monde. Il est généralement distribué dans le monde entier et il est très abondant dans toutes les parties des Etats-Unis.

Selon **(Lepesme ,1944),** cette espèce préfère les régions tempérées et remonte assez loin dans le nord de l'Europe et de l'Amérique, sous les climats froids. On rencontre cet insecte dans la nature, non seulement en Afrique, mais aussi dans les régions où elle fut introduite, sous l'écorce des arbres **(Delobel, 1993)**

IV.6. Régime alimentaire et dégâts causés par *T. confusum*

IV.5.1. Régime alimentaire

Tribolium confusum est un insecte ravageur secondaire clé d'un large éventail de produits végétaux et animaux, tels que les céréales, les grains, les farines et d'autres produits céréaliers, les haricots, le coton, les fruits secs, les produits de la mer, les produits de la pêche, etc. **(Nickolas G. Kavallieratos,2022).**

IV.6.2. Les dégâts

produits stockés. Il infecte principalement les graines, les noyaux de fruits et d'autres produits qui ont été détruits par des ravageurs ou endommagés lors de la récolte et du stockage**. (Del obel et Tran ,1993)**

Cet insecte se caractérise par un très grand omnivore, attaquant aussi bien le blé que le maïs et le haricot. En cas d'infestation sévère, les adultes libèrent des substances quinoléiques qui donnent aux aliments une odeur répulsive caractéristique **(Seck, 2009)**



Figure 11:Dégâts de *T. confusum* sur la semoule fine (Originale).

IV.7. Les moyens de lutt

IV.7.1. Les méthodes traditionnelles

IV.7.1.1. Enfumage

Les produits les plus importants pour les producteurs sont généralement stockés dans

Les foyers domestiques sont ainsi fumés en quasi permanence (**Doumandji, 2003).**

Fumer ne tuera pas les insectes, mais les éloignera et empêchera une infestation.

IV.7.1.2. Exposition au soleil

L'exposition des aliments au rayonnement solaire intense facilite le départ des adultes

Ne supporte pas la forte chaleur ou la lumière (stock d'insectes

Généralement dans les zones sombres).

Le produit doit être déposé en couche mince, la forme cachée dans le grain ne sera pas

Atteindre **(Doumandji, 2003).**

IV.7.1.3. Utilisation de plantes répulsives

Dans certaines régions, il est d'usage de mélanger les graines avec les plantes comme

Insectifuges **(Doumandji, 2003).**

IV.7.2.1. Lutte biologique

Il s'agit d'une méthode classique pour repousser les ravageurs dans les aliments stockés en utilisant des poudres ou des terpènes et des alcools extraits de plantes telles que des parties de plantes connues pour leurs propriétés insecticides et toxiques contre les insectes ou

des extraits organiques et d'autres micro-organismes animaux qui sont des insectes prédateurs et des parasites de *Tribolium confusum,* **(SEMSAR, 2013).**

IV.7.2.2. La lutte biotechnologique

Les moyens utilisés dans cette méthode sont les phéromones de synthèse induisant un dérèglement du comportement des adultes par confusion de substances odorantes répulsives, Des hormones de croissance causent des troubles de développement. Ces Régulateurs de la croissance des Insectes (IRG) sont efficaces à tel point que la descendance devient incapable de se reproduire **(SEMSAR, 2013).**

Partie III : Données bibliographiques sur les Micro-organismes

VI.1. La souche bactérienne

La bactérie sur laquelle a porté le présent travail concerne l'agent causal de la maladie de feu bactérien ***Erwinia amylovora***. Cette dernière est Signalée et confirmée par l'INPV en Juillet 2010 dans la wilaya de Tipaza (Koléa).

VI.2. Classification

La systématique de Erwinia amylovora **(OEPP/EPPO Global Data base, 2012)**

Règne : *Eubacteria*

***P*hylum** *: Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Entrobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Erwinia*

Espèce : *Erwinia amylovora*

VI.3. La morphologie

E. amylovora est un bâtonnet court, 1,1-1,6 x 0,6-0,9 µm, Gram-négatif, aux extrémités arrondies. Les cellules sont généralement autonomes, ne forment pas de chaînes cellulaires, ne possèdent pas d'endospores et ne sont pas mobiles par les péri flagellés. **(Bennet RAE, 1978)**

.***Erwinia amylovora*** cause des dégâts important sur les rosacées à noyau ;

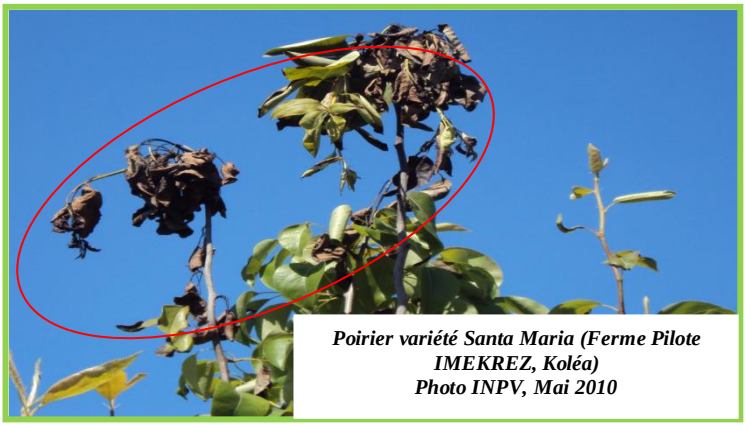


Figure 12:Brulure des feuilles, fleurs, rameaux et fruits.

VI.2. La souche fongique
VI.1.Généralité

Le pathogène fongique Fusarium graminearun est l'agent causal le plus courant de la fusariose de l'épi (FHB) en Amérique du Nord et dans de nombreuses autres régions du monde. Cette maladie destructrice, couramment mais peut-être à tort connue sous le nom de gale, affecte le blé, l'orge et d'autres petites céréales à la fois dans les régions tempérées et semi-tropicales. La maladie a la capacité de détruire une culture potentiellement à haut rendement en quelques semaines après la récolte **(Rubella, 2004)**

Les champignons du genre *Fusarium* appartiennent au groupe des ascomycètes. Puisque les hyphes de ces moisissures ne sont pas pigmentés, on pourrait les ranger aussi parmi les hyalohyphomycètes. Il y a au moins 70 Fusarium spp. Définis et bien décrits, mais il y a peut-être encore beaucoup plus d'espèces qui sont encore mal caractérisé(**Herbert Ho ,2020)**

VI.2. Classification

Basé sur l'état sexuel Gibberella zeae (Schwein.) Petch : Superroyaume Eukaryota ; Champignons du Royaume ; Phylum Ascomycota; Sous-embranchement Pezizomycotina ;

Classe Sordariomycetidae; Sous-classe Hypocreomycetidae; ordre des hypocréales ; famille des Nectriacées ; Genre Gibberella**.(Rubella ,2004)**

VI.3. Les symptômes

Pour le blé, des lésions nécrotiques brunes, violet foncé à noires se forment sur la face externe des fleurons et de la glume (Fig. 1). Bien que ces symptômes de lésions soient parfois appelés gale, ils ne sont pas formellement liés à l'hyperplasie et à la croissance épidermique hypertrophique associées à d'autres maladies de la gale telles que la tavelure du pommier. Les pédoncules immédiatement sous l'inflorescence peuvent se décolorer en brun/violet. Avec le temps, les tissus de l'inflorescence deviennent souvent flétris, apparaissant blanchis et bronzés, tandis que le grain à l'intérieur s'atrophie. Les arêtes deviennent souvent déformées, tordues et courbées vers le bas **(Rubella ,2004)**



Figure 13:des symptômes de fusariose de l'épi.

VI.4. Mécanisme d'infection fongique par le Fusarium

Pour bénéficier des éléments nutritifs nécessaires à leur croissance, les champignons du genre Fusarium comme tous les champignons parasites vont se heurter à des barrières physiques Efficaces de la plante : la cuticule foliaire, l'écorce des tiges et des racines ou les parois cellulaires. Certains d'entre eux exercent une action mécanique suffisante pour franchir ces obstacles; ils pénètrent alors par les ouvertures naturelles (exemple, stomates), ou lesblessures, ou après la digestion des structures de surface. Pour coloniser et détruire la plante,

ils déploient des armes chimiques très variées parmi lesquelles les enzymes, les toxines, les hormones et les polysaccharides représentent un arsenal dont l'importance dans la pathogénie varie cependant d'un parasite et d'une plante à l'autre. Il existe plusieurs étapes pour que le pathogène puisse réussir l'infection, les principales sont : l'attachement des spores fongiques, la germination des spores et enfin l'entrée du tissu végétal

(Boulanouar et , *al*, 2011).

Chapitre II
Matériel et méthode

Objectif

Notre travail a pour but d'étudier l'activité biologique des huiles essentiels des plantes, *Mentha spicata*, *Pistacia lentiscus*, *Citrus sinensis*, en tenant compte les points suivants :

1. Etude de la composition chimique des plantes étudiées
2. Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles contre un ravageur des denrées stocké : *Tribolium confusum*, ainsi que le test répulsif.
3. Etude de l'activité microbiologique des huiles essentielles contre une bactérie : *Erwinia amylovora* et un champignon : *Fusarium* sp.

I-Matériel

I.1. Matériels Animal

Les adultes de *Tribolium confusum* (Figure 15) issus d'un élevage permanent



Figure 14 : adulte de *Tribolium confusum*

I.2.Matériel végétal

On a utilisé les feuillé séchée de la plante *Mentha spicata* (Figure 16), et fraiche de la plante *Pistacia lentiscus* (Figure 17) et *Citrus sinensis* (Figure 18).



Figure 16: feuille de Menthe séchée (originale2023)



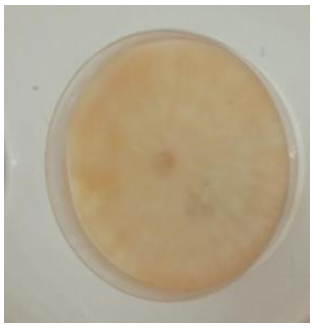
Figure 17 : feuille de Citrus fraiche (originale2023).



Figue 15: feuille de Pistacia fraiche(originale2023).

I.3.Matériel microbiologique

Les micro-organismes testés lors de notre travail provient de l'INPV d'EL HARRACH. Nous avons utilisé comme champignon *Fusarium sp* (Figure 19) et comme bactérie *Erwinia amylovora* (Figure 20)





Figur19: *Fusarium spp (originale2023).* Figure20: *Erwinia amylovora(originale2023).*

I.3.a. Souche bactérienne

La souche bactérienne a été isolée à partir d'un échantillon symptomatique, collecté au niveau d'un verger de poirier (var : Santa maria) situé au niveau de la wilaya de Constantine. Cette souche est conservée à -20C°.

I.3.b. Souche fongique

L'isolat fongique utilisé pour mettre en évidence l'effet antifongique des huiles essentielles a été obtenu de la mycothèque du laboratoire de mycologie de l'IENPV d'EL HARRACH. Il s'agit d'une souche de *Fusarium* spp isolé à partir des plants de blé dur issu de la wilaya de Tipaza.

I.4.Matériel non biologique

Le matériel non biologique est constitué de produits, des réactifs, des appareils et des verreries utilisées tout au long de la pratique **(Annexe)**

II. Méthodes

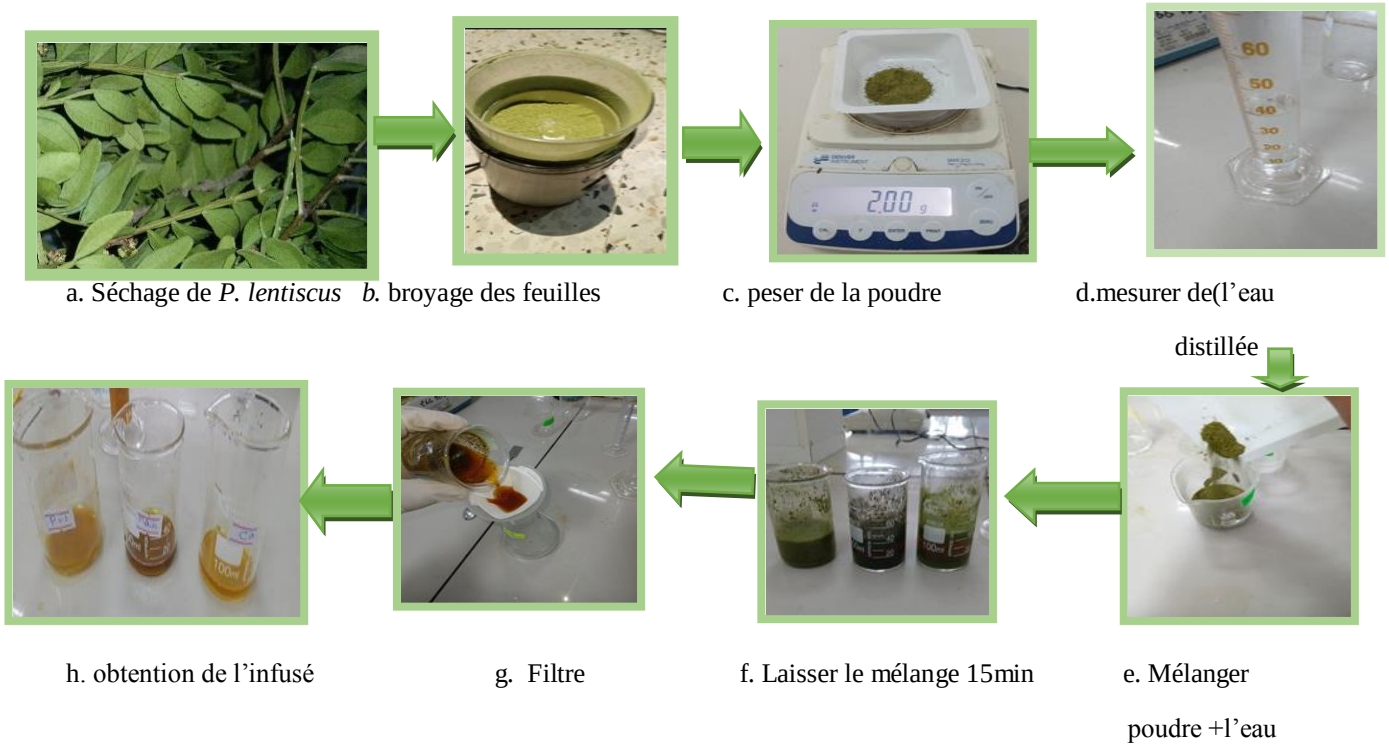
II .1. Screening phytochimique des plantes étudiées

II.1. 1.L'étude phytochimique

Ces tests ont pour but de connaitre la composition des métabolites secondaires (anthocyanes, gallo tannins, alcaloïdes, glycosides, mucilages) et ils sont réalisés sur la poudre de broyat ou sur du matériel imbibé infusé **(Bouyer, 1996).**

II.1. 2 Préparation de l'infusé

Consiste à introduire 2g de poudre végétale dans 40 ml d'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 20 ml de filtrat. (Figure 21) (tableau 01) (**EL-Haoud et *al* ;2018).**



a. Séchage de *P. lentiscus* *b.* broyage des feuilles c. peser de la poudre d.mesurer de(l'eau

h. obtention de l'infusé g. Filtre f. Laisser le mélange 15min e. Mélanger poudre +l'eau

Figure 21 : Les étapes de préparation de l'infusé (originale 2023)

Tableaux 01 : protocole expérimental de screening phytochimique

métabolites secondaires	la méthode d'identification
Les anthocyanes	-.A 5ml d'infusé, sont ajoutées quelques gouttes d'ammoniaque ½.l'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.
Les tanins	-A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de F_eCL_3 à 5%. La réaction donne une coloration bleue noir en présence des tanins.
Les alcaloïdes	Introduire 1g de poudre végétale dans un tube à essai, et ajouté 10 ml d'acide sulfurique (10%). Agiter énergiquement pendant 2 mn et filtrés, ajouter 2 gouttes de réactif de Dragenodorff. l'apparition d'un précipitation rouge oranger indique la présence d'alcaloïdes.
Les glucosides	A 2 g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique (H2SO4) La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.
Les mucilages	-On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitationfloconneux

	indique la présence des mucilages.

II.3. Protocol expérimental

Notre étude a été réalisée avec les huiles essentielles (HE) extraites des feuilles de trois (03) plantes aromatiques et médicinale locales appartenant à la famille des Lamiacées, Rutaceae et Anacardiaceae. Il s'agit de *Mentha spicata***,** *Citrus sinensi*s, et *Pistacia lentiscus.* Collectées respectivement dans les régions de ELBayadh (El Ghassoule), Blida (Oued Alleug), Blida (El Afroun). Ces huiles essentielles ont été fournies à partir du laboratoire Bio Extrapamal de Blida. Les huiles ont été testées sur les adultes de *T. confusum* en évaluant le taux des mortalités des séries témoins et traités. Un test répulsif est mis en évidence. Quant à l'activité antimicrobienne a été justifié par un suivi de la croissance mycélienne de notre champignon, et la croissance de la zone d'inhibition de notre souche bactérienne.

II.4. Extraction par entrainement à la vapeur (EV).

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'un des procédés d'extraction les plus anciens et le plus couramment employé. La technique consiste à injecter de la vapeur d'eau saturée avec une faible pression, au bas de la charge végétale placée dans un alambic au-dessus d'une grille ou une plaque perforée. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante. L'évaporation de l'eau peut être obtenue par chauffage direct (alambic à feu nu) ou par injection de la vapeur surchauffée dans la double enveloppe limitée à la partie inférieure de l'alambic. Lors du passage de la vapeur d'eau à travers le végétal, les cellules oléifères éclatent et libèrent leur contenu d'huile essentielle. La vapeur d'eau chargée en composés volatils, récupérés au sommet de la matrice végétale, est ensuite condensée au niveau d'un serpentin qui sert de condenseur où circule de l'eau froide avant d'être acheminée vers un essencier ou un vase florentin. On obtient alors deux phases, l'une aqueuse (eau florale) et l'autre hydrophobe (organique) qui est l'huile essentielle. La séparation se fait par différence de densité après décantation du distillat refroidi (fig. ?) **(HAMITOUCHE ,2016).**

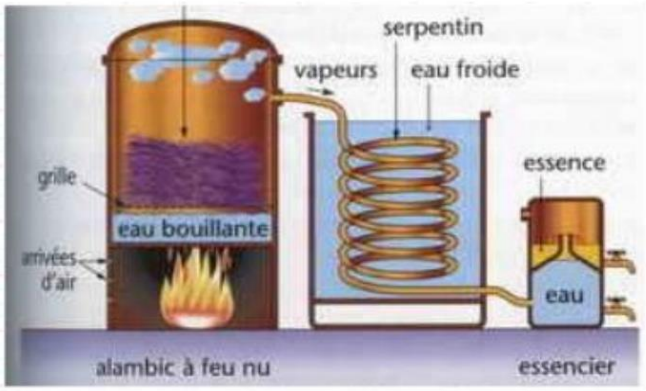


Figure 22 : Schéma du montage d'entraînement à la vapeur d'eau Tassadit ISSAADI-HAMITOUCHE (2016).

II.2. Activité insecticide

Pour réaliser ce paramètre un élevage en masse de *T. confusum* a été effectué au niveau de laboratoire de SNV de l'université de Médéa.

II.2.1. Élevage des insectes

- placer la farine et la levure au congélateur pendant au moins 24 h.

- remettre la farine et la levure à une T° ambiante.

- Ajouter 5% de levure à la farine (soit 50 g/kg) et bien mélanger.

- verser le mélange dans les récipients sur une hauteur de quelques centimètres.

- Ajouter les individus de *T.confusum*.

- Fermer le flacon avec un couvercle en papier maintenu par un élastique .

-Placer les flacons dans une étuve réglée à 30 °C. (Figure 23)



Figure 23: Elevage en masse de tribolium sur la semoule fine (Originale2023)

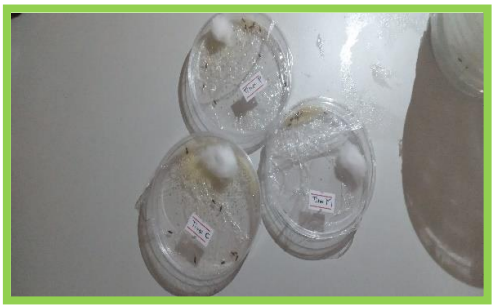
II.2.2.Evaluation de l'effet par inhalation des huiles essentielles sur *Tribolium confusum*

L'effet par inhalation des huiles essentielles est étudié sur les adultes de *T. confusum* en adoptant la méthode décrite par Papachristos et Stamopoulos (2002).

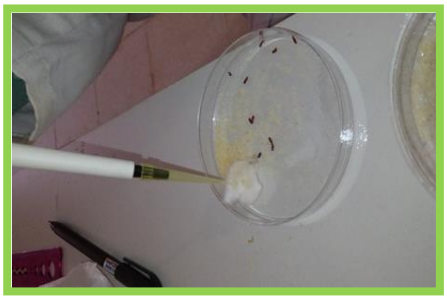
Dans des boites pétri, des masses de coton sont fixées à côté. Des doses des huiles essentielles : 25µl, 50µl et 75µl, correspondant à des concentrations calculées de 0, 25, 50, et 75 µl /l, sont injectées dans la masse de coton. Parallèlement, un témoin n'ayant pas reçu d'huiles, est réalisé (Fig. …..

Dix individu (male et femelle) de *T. confusum* sont mis rapidement dans les boites aussitôt fermées avec un papier film. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque dose et pour le témoin.

Le dénombrement des individus morts est effectué au bout de 24h, 48h, 72h ,96h et 120h dans chaque boite.



b. Témoin



a. Traité

Figure 24: Test d'inhalation effectué sur les adultes de T. confusum traités par différentes doses d'huiles essentielles. (25µl, 50µl, et 75µl) (Originale, 2023).

II.2.4.Test répulsive

-Nous avons divisé le papier filtre en deux partie

- On met des insectes au milieu de la boite

-Après nous avons humidifié une partie avec DMSO et l'autre partie avec les différentes huiles essentielles

- Contrôler l'insecte Pendant (5mn-10mn et 15mn) pour estimer sur quelle partie se dirige les individus.

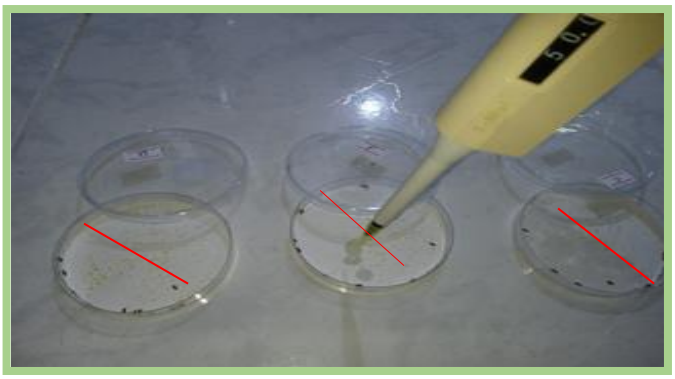


Figure *25:* Test répulsif (originale 2023)

III.1.Activité anti-microbienne

Nos expérimentations concernant ce paramètre ont été réalisé au niveau des Laboratoires de Bactériologie et de Mycologie et de l'INPV d'El Harrach

III.1.2. Isolement et identification du matériel bactériologique

Les différentes étapes de la réalisation de la mise en culture et l'identification des bactéries phytopathogènes au laboratoire sont les suivantes :

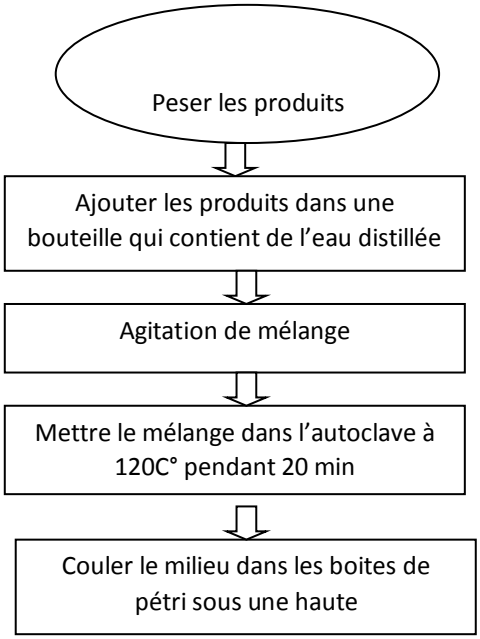
III.1.2. 1.Préparation de milieu de culture et les réactifs

Les milieux nécessaires et les réactive sont les suivants : - Le milieu L.P. G. A qui est un milieu général et qui sert à l'isolement des bactéries. - Le milieu NAS utilisé pour l'identification morphologique des colonies typique d'***Erwinia amylovora***. -Le milieu Hugh et Leifson (H&L). Le KOH à 3%, le N-N diméthyle, et l'eau oxygéné (H2O2). Il est à noter que les milieux sont stérilisés à 120°C pendant 20 mn.

III.1.2.2. Préparation de milieu de culture L.P.G.A et NAS

Le protocole de préparation des milieux de culture L.P.G.A, NAS et Le milieu Hugh et Leifson (H&L) est présenté dans l'annexe.

La méthode de préparation des milieux L.P.G.A et NAS se traduit par le l'organigramme suivant



Le diagnostic en laboratoire pour l'identification d'***Erwinia amylovora*** se déroule comme suite :

- Préparation de l'échantillon
- Isolement sur milieux de culture
- Tests d'orientation ou tests biochimiques.
- Test d'hypersensibilité sur tabac.
- Test sérologique (immunofluorescence).
- Test de Biologie Moléculaire.

III.1.3. - Préparation de l'échantillon :

- Désinfecter les mains avec de l'alcool.
- Allumer le bec bunzen.
- Essuyer la paillasse avec du coton imbibé d'alcool.

III.1.4. Préparation d'échantillon symptomatique :

- Désinfecter superficiellement l'échantillon (feuilles, rameaux, tiges et fruits) à l'aide de coton imbibé d'éthanol 70° ou passage rapide à la flamme.
- Prélever au scalpel un morceau de végétal en bordure de lésion, placer dans une boite de Pétri stérile ajouter 2 ml d'eau distillée stérile
- Laisser macérer 20 mn à température ambiante.

III.1.3. Isolement sur différents Milieux de culture :(LPGA et LEVANE et milieu de Hugh et Leifson)

Prendre une goutte du liquide de macération avec l'anse et l'étaler sur la boite de Pétri de deux façons :

a- Etalement sectoriel:

On divise le milieu en 3 secteurs :

- 1ére zone : on fait des stries très serrées.
- 2éme zone : les stries sont plus au moins serrées.
- 3éme zone : étalement très espacé pour individualiser les colonies.

*Stériliser l'anse entre chaque utilisation.

b- Etalement en nappe :

Mettre deux à trois gouttes au centre de la boite et l'étaler avec une pipette pasteur en râteau.

Incuber les boites de pétri à une température de 28°c pendant 48 à 72 heures, temps d'apparition des colonies.

c- Purification :

En dépit des précautions prises, il est assez rare que l'on obtienne d'emblée une culture pure.

La notion des colonies porte sur la couleur, la forme, l'aspect et la dimension des colonies.

Les colonies ainsi individualisées, sont repiquées sectoriellement sur les différents milieux de cultures.

III.2. Tests d'orientations ou tests biochimiques :

A- Test KOH 3% détermination du Gram :

- Mettre une goutte de KOH 3% sur une lame en verre propre,
- Prendre une colonie (crème bactérienne) d'***Erwinia amylovora*** et l'émulsionner sur la goutte avec pipette pendant 5 à 10 secondes.

Résultat :

1-Formation d'un filament visqueux (Agglutination) indique que la bactérie Gram négatif.

2-Absence de filament indique que la bactérie est gram positif.

*Répéter l'opération 3 fois pour confirmer.

B-Test d'Hugh & Leifson (HL)

Détermination des voies de dégradation de glucose par les bactéries (oxydative ou fermentative)

- Prendre 2 tubes à essai contenant le milieu H & L.
- Ensemencer la crème bactérienne (E.A) dans les 2 tubes
- Passer à l'agitateur pour avoir un milieu homogène.
- Recouvrir l'un des 2 tubes avec de l'huile de vaseline.
- Laisser incuber : 24 à 48h.

Résultat :

- Si les deux tubes sont jaunes : la bactérie est fermentative
- Absence de modification des deux tubes : bactérie est inactive.
- Seul le tube en aérobiose vire au jaune : bactérie est oxydative.



Figure26: Test d' Hugh & Leifson (HL)

C-Test d'Oxydase:

- Préparation de N.N-diméthyl-p-phénylène diamine dihydrochloride1g/100ml bien agiter et conserver en obscurité à 4°C pendant 15 jours au maximum.
- Imbiber le papier filtre stérile avec une goutte de réactif.
- Emulsionner la crème bactérienne (E.A) de 24h avec cure dent stérile ou pipette pasteur sur la goutte.

Résultat :

Positif : apparition d'une coloration bleu violette dans 10 à 30 secondes

Négatif : absence de la coloration confirmée après 30 secondes

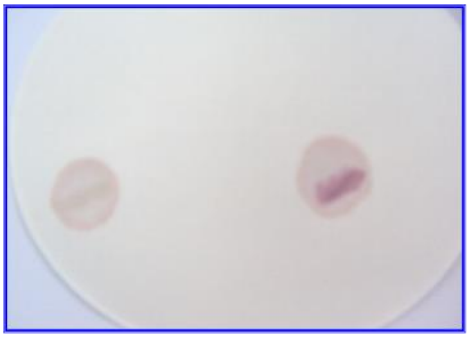


***Figure* 27:** *Test d'Oxydase*

Milieu Levane (NAS) : polymérisation de saccharose en polyfructose

n saccharose $\xrightarrow{\text{Levane sucrase}}$ n glucose+ (fructose)n

Le milieu Levane est inoculé en strie avec la bactérie âgée de 24 à 48 heures.

Incuber à 27 °pendant 48h.

Résultat : Les colonies sont bombées, blanches et brillantes le test est positif.

D- Test de Catalase:

Dans une boite de Pétri stérile ou sur une lame, déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène 3% correspondant à 10 volumes.

A l'aide d'une pipette pasteur prendre la crème bactérienne (culture de 18-24 heures) et la déposer dans la goutte de peroxyde d'hydrogène.

Résultat :

Réaction positive : présence des bulles révélant le dégagement d'oxygène (réaction d'effervescence)

Réaction négative : absence des bulles.

$H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} H_2O + \frac{1}{2} O_2$

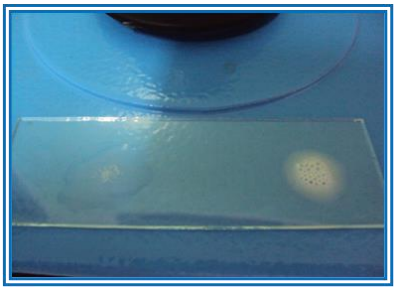


Figure 28: Test de Catalase

E-Test d'hypersensibilité sur Tabac:

Le test de pouvoir d'hypersensibilité d'une bactérie se pratique généralement sur le plant de tabac,

Dans un tube contenant 2ml d'H2O stérile, faire une suspension bactérienne (culture de 24à 48h) à une concentration de 108 bactérie / ml ou avoir milieu trouble après agitation.

- Le témoin négatif: d'H2O stérile,
- à l'aide d'une seringue stérile inoculer la feuille de tabac sur la face inférieure avec la suspension.
- laisser le plant à température ambiante pendant 24 à 48 h.

Résultat:

La zone foliaire inoculée devient légèrement translucide et a un aspect

humide. Par la suite, les tissus s'assèchent et prennent une coloration brune

Clair à beige (réaction positive).

F-TEST SEROLOGIQUE : Immunofluorescence (IF)

La base de ce test sérologique consiste en l'utilisation d'un anticorps spécifique à la bactérie (antisérum), la visualisation des cellules bactérienne est rendue possible grâce à l'anticorps marqué à la fluorescéine (IgG).

Méthode:

- Purification de la crème bactérienne, centrifugation à 1200tr/mn pendant 10 minutes (3 répétitions).
- Déposer 20µl de suspension purifiée/ puit (lames multi puits).

- Mettre la lame sur une boite de pétri en verre.
- Incubation à 50°c pendant 30 mn.
- Fixer à l'alcool.
- Sécher à l'air libre.
- Déposer 20µl d'antisérum.
- Incubation pendant 30 mn à température ambiante (à l'obscurité).
- Laver avec du PBS en utilisant une pissette.
- Sécher la lame à l'air libre.
- Appliquer 20µl de conjugué (IgG).
- Incubation pendant 30 mn à température ambiante (à l'obscurité).
- Laver avec du PBS en utilisant une pissette.
- Sécher la lame à l'air libre.
- Observation au microscope photonique à fluorescence à un grossissement 100.

IV. Activité anti-bactérienne des huiles essentielles

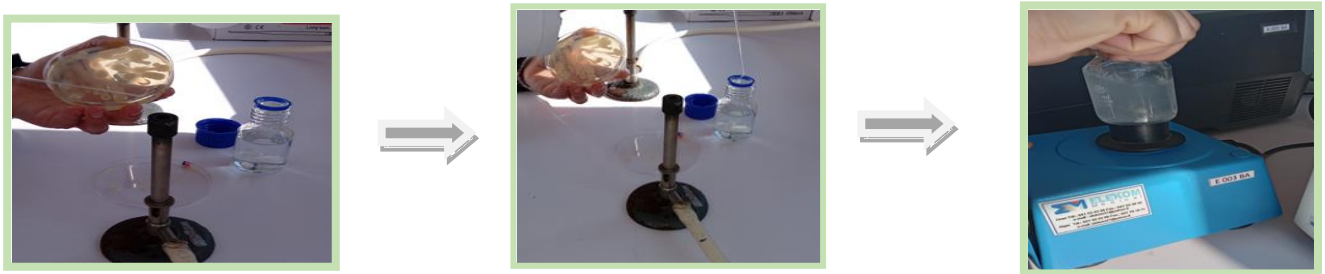
IV.1. Protocole expérimental

IV.1.1. Ecoulement de milieu de culture dans des boites de pétri

Le milieu de culture L.P.G.A est coulé dans des boites de Pétri a une hauteur 4 mm, puis refroidie à une température ambiante, le contenu des boites doit être solidifie.

VI.1.2.Préparation de l'inoculum

On prépare l'inoculum à partir d'une culture jeune de 24 heures, une suspension bactérienne avec l'eau physiologique de manière à ce que la concentration en bactérie soit égale à 10^{-8} UFC/ml.



a. Prélèvement de la bactérie **b.** ajouter les colonies bactériennes dans le flacon c. Mélanger l'inoculum

Figure29 : les étapes de préparation de l'inoculum (originale 2023)

IV.1.3. Ajustement des titres de l'inoculum

Pour que le dénombrement soit précis, on utilise la méthode spectrophotométrique. Tout d'abord, on verse l'inoculum dans la cuve. Cette cuve est placée dans le spectrophotomètre à la longueur d'onde 620 nm devant un blanc qui est l'eau physiologique. Si la densité optique de la suspension bactérienne mesure de 0,2 à 0,3 ; cela signifie que le nombre bactérien est de $10^6 – 10^8$ cellules / ml.

A la lecture de l'absorbance, si une valeur n'est pas comprise dans l'intervalle prédéfini, on ajuste. Dans le cas où la valeur est supérieure à la valeur maximale on ajoute de l'eau physiologique. Si cette dernière est inférieure à la valeur minimale on ajoute des colonies.

La concentration 10^8 cellules /ml permet d'obtenir des tapis de colonies confluentes suffisamment denses.



a. Verser l'inoculum dans la cuve b. Placer la cuve dans le spectrophotomètre c. Lecture des absorbances

Figure 30 : Dénombrement des cellules bactériennes (originale2023)

IV.1.4. Préparation des disques

Après stérilisation par stérilisateur, les disques de papier Wattman de 6 mm de diamètres sont imbibes dans la solution des huiles essentielles à tester, après environ 30 minutes d'imprégnation, on prélève les disques à l'aide d'une pince stérile. On laisse sécher à l'aire libre devant le bec Bunsen dans la zone stérile afin d'éliminer l'effet antimicrobien du solvant.

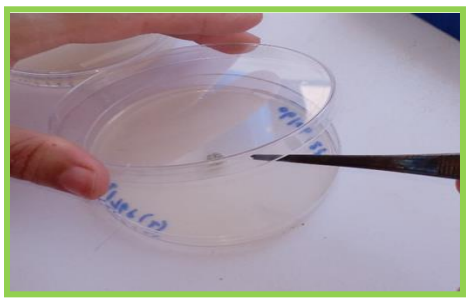


Figure 31: Dépôt de disque (originale2023)

IV.1.5. Ensemencement des boites de pétri préparées

A partir de ces boites de pétri, on a ensemencé une boite de milieu L.P.G.A par la souche bactérienne étudiée. On prend 0,5 à 1ml de l'inoculum est ensemencé par inondation sur la surface de la gélose. Après on laisse les boites sécher à la température du laboratoire pendant 10 à 15minutes.

Après, on dépose à l'aide d'une pince stérile prés de bec bunsen, les disques imprégnés des huiles essentielles et des témoins en appuyant très légèrement en dessous pour assurer le contact.

Il faut noter que le test de l'antibiogramme est répété deux fois pour chaque souche testée et une boite qui contient le témoin (DMSO).

IV.1.6. Incubation des boites

Selon DUVAL et SOUSSY (1990), les boites sont mises à 4°C pendant deux à quatre heures pour assurer la diffusion des huiles essentielles testées dans le milieu ensemencé. Puis on incube les souches bactériennes à l'étuve à 27°pendant 24 heures.

IV.1.7. Lecture

Selon DUVAL et SOUSSY (1990), après le temps d'incubation la lecture est faite en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition qui forme un halo autour des disques à l'aide d'un double décimètre dont le diamètre permet de déterminer la sensibilité des germes vis-à-vis des huiles essentielles testées étudiés. On dira que l'activité est :

-Forte : pour des diamètres de zone d'inhibition supérieurs à 18mm (souches extrêmement sensibles)

-Moyenne : pour des valeurs comprises entre 14 et 17 mm (souche très sensible).

-Faible : pour valeurs qui n'excèdent pas 10 mm (souche sensible).

-Nulle : lorsque le diamètre est inférieur à10 mm et dans le cas d'un développement des colonies en contact du disque.

IV.1.8. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) pour les huiles essentielles à tester

La **CMI** est la plus faible concentration d'extrait pour laquelle il n'ya pas de croissance de germe visible. Elle correspond à la plus faible concentration d'extrait qui provoque l'apparition d'un spectre d'inhibition ou une zone d'inhibition (SINOT, 1985 ; COUVARLIN et *al*., 1985).

IV.1.9. Tests antibactériens

La sensibilité des bactéries cibles en vers les différents composés est classée selon les diamètres de halos d'inhibition. On note que la bactérie est extrêmement sensible pour un diamètre de zone d'inhibition ≥20mm. Elle est très sensible pour un diamètre de zone d'inhibition comprise entre 15 et 19mm. La bactérie est dite sensible pour un diamètre de zone d'inhibition comprise entre 9et 14 mm. La bactérie est non sensible pour un diamètre de zone d'inhibition <9mm.

La détermination de la sensibilité de la bactérie étudiée vis-à-vis les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus L, Citrus sinensis* et *Mentha spicata L*. s'est basée sur l'étude de l'inhibition de la croissance bactérienne de la souche *Erwinia amylovora* aux concentrations présentées dans le tableau 02. DMSO a été utilisée comme témoin T (0 %).

Tableaux 02 : la Concentration des huiles essentielles à tester

Rapport de dilution d'HE	Solution mère	1/2 Tube 1	¼ Tube 2	1/8 tube 3	1/16 Tube 4
Concentration (%)	100	50	25	12,5	6,25
Concentration (µl d'HE/ml)	126,76	63,38	31,69	15,84	7,92

VI.Activité anti fongique des huiles essentielles

VI.1. Préparation du milieu de culture

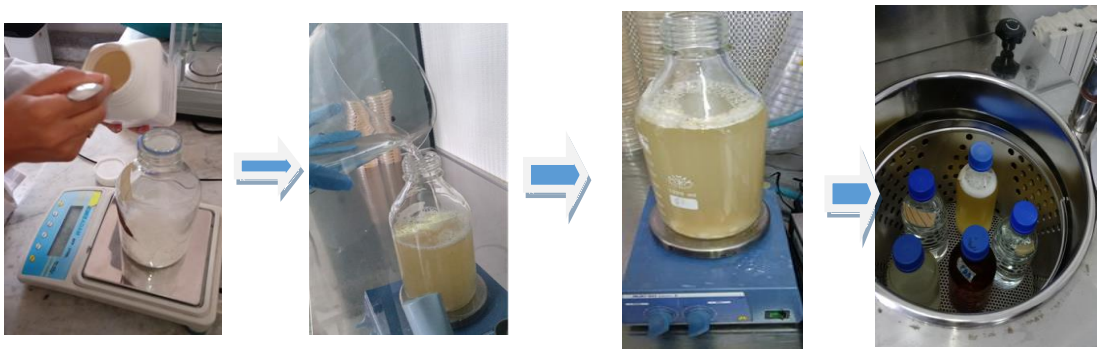
Le milieu utilisé pour isoler les souches fongiques est le milieu PDA (Potatos Dextros Agar), Ce dernier est un environnement très favorable pour le développement de

champignons, en particulier les champignons du genre *Fusarium* riche en nutriments, notamment en glucose et en amidon.

Pour 1litre de milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) :

- Peser 42 g de PDA commercial déjà préparé ;
- Faire dissoudre les 42g dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Agiter avec l'agitateur magnétique ;
- Autoclaver le mélange à une température de 120° C pour une pression de 1,1 bar pendant 20 minutes.
- Une fois autoclavé, couler la solution obtenue sous hotte à flux laminaire ou entre deux becs Bunsen dans les boîtes de Pétri. Le milieu de culture doit couvrir les 1/3 de la boite.
- Laisser le milieu de culture se solidifie

Une fois le milieu est coulé et solidifie, les boites sont renversées pour éviter la condensation de l'eau sur les couvercles.

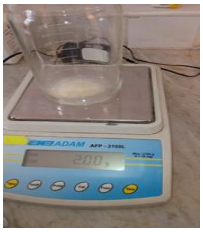


a. Peser la poudre b.ajouter 1L d'eau distillé c.Agiter le mélange d. Autoclaver

Figure 32: les étapes de préparation du milieu de culture PDA. (Originale2023)

VI.2. Préparation d'eau agar-agar

On prépare d'abord une solution d'Agar-agar dans de l'eau à 0,2%. En Pesant 2g de poudre agar agar avec 1L d'eau distillé. Mélanger ce dernier dans un flacon en verre. Mettre le mélange dans l'autoclave à une température de 120° C et une pression de 1,1 bar pendant 20 minutes.




a. Peser le PDA b. Ajoute l'eau1L distillé

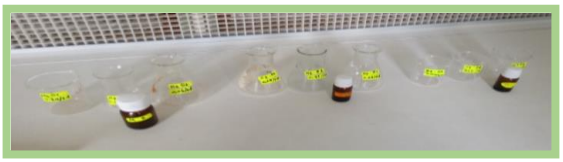
Figure 33 : Préparation de l'eau agar(originale)

VI.3. Analyse de l'activité antifongique des huiles essentielles sur la croissance mycélienne de l'isolat de Fusarium spp

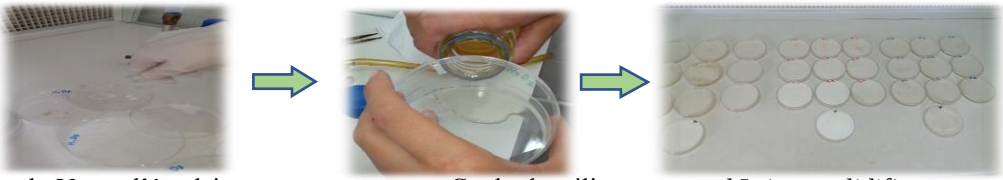
L'étude de l'activité antifongique de l'émulsion (HE + eau-agar) des huiles essentielles extraites sur la croissance de l'isolat de *Fusarium spp* a été réalisée selon la technique de contact direct avec 04 répétitions.

VI.4. Préparation des émulsions des huiles essentielles

Les trois huiles essentielles ont été mises en émulsion dans une solution autoclavée d'eau-agar 0,2% à une dilution de 1/25ième (4%). La préparation de la concentration 1/250 v/v (0,4 %) de l'huile essentielle pour chaque boite de Pétri commence par la préparation de l'émulsion qui commence par l'ajout de 0,06 ml de l'huile pour la 1ère dilution et 0.03 ml pour la 2ème dilution et 0.015 ml pour la 3ème dilution à 1,5 ml d'eau-agar autoclavé (dilution 1/25 v/v) figure. On agite les émulsions vigoureusement au vortex. On verse 1,5 ml de chaque émulsion dans des boites de Pétri. Et on a ajouté 13,5 ml du milieu PDA en surfusion dans les mêmes boites. Les cultures témoins ont été préparées à 15 ml de PDA seulement. Déplacer les boites préparées délicatement en 8 pour homogénéiser le milieu. Laisser refroidir avant de repiquer le champignon. Figure 34



a. Les huiles essentielles + l'eau-agar

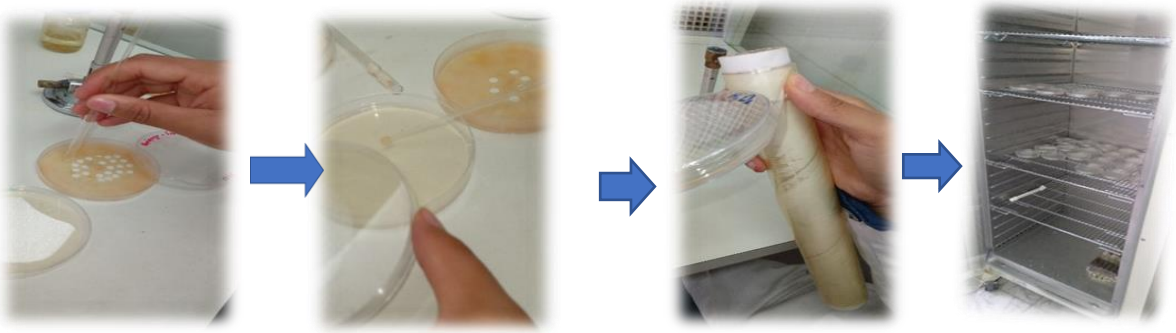


b. Verser l'émulsions c. Couler le milieu d.Laisser solidifier

Figure 34 : Préparation des émulsions des huiles essentielles

VI.5. Technique de contact direct

A l'aide d'une pipette pasteur stérile le repiquage a été fait dans des boites de Pétri par dépôt d'un disque mycélien de l'isolat fongique étudié de 5 mm de diamètre issu d'une culture âgée de 7 jours développée sur milieu PDA. Les boites de Pétri préparées sont par la suite fermées hermétiquement avec du parafilm et incubées à l'obscurité pendant 7 jours dans une étuve réglée à 25 °C.



a. Couper les disque b. déposer sur le milieu c.fermées hermétiquement d. Incuber

Figure 35 : Application des disque sur les milieu PDA et scellées après incubée

VI.6. Lecture des résultats

La lecture des résultats est basée sur la détermination des taux d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque méthode. Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne ont été calculés selon la formule décrite par Pandey et *al*. (1982), et rapportée par Sharma et Tripathi (2008) :

$$IG = \frac{(d0 - dt)}{d0} \times 100$$

Où : IG : taux d'inhibition de la croissance mycélienne (en%)

d0: moyenne des diamètres de la colonie fongique de témoin (en mm)

dt: moyenne des diamètres de la colonie fongique traitées (en mm)

VI.7. Analyse statistique

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des huiles essentielles obtenues par extraction vis-à-vis le *Tribolium confusum* le logiciel MINITAB 19 a été utilisé pour déterminer les différentes moyennes ainsi que les différents graphiques pour analyser les résultats. La variance a été déterminée et les différences ont été considérées comme significatives pour une $p \leq 0.05$.

Chapitre III : Resultats et Discussion

I.L'étude phytochimique

Les résultats des tests phytochimique de la poudre et l'infusé des feuilles des plantes étudiées sont présentés dans le tableau 03

Tableau 03 : Screening phytochimique des plantes étudiées

Les plantes / **Les réaction**	***Pistacia lentiscus***	***Mentha spicata***
Les anthocyanes	++	++
les tanins	++++	++++
Les alcaloïdes	-	-
les glucosides	++	++++
Les mucilages	++	++++

++++ : Fortement positif ; ++(+) : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

D'après les résultats obtenus dans le tableau si -dessus, nous avons noté que *Mentha spicata,* est très riche en mucilages, les tanins et les glucosides, moyennement positif en anthocyanes et pauvre en alcaloïdes.

Nous avons Trouvé aussi que les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont très riche en tanins, moyennement riche en anthocyanes, les glucosides et les mucilages. Les alcaloïdes sont absents dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*.

II.1. Effet insecticide des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis et Mentha spicata*

II.1.1. Effet insecticide de l'huiles essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum*

Les résultats de taux de mortalité des adultes de *T. confusum* traités par l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sont présentés dans le tableau 1 (annexe) et illustrés par la figure 36

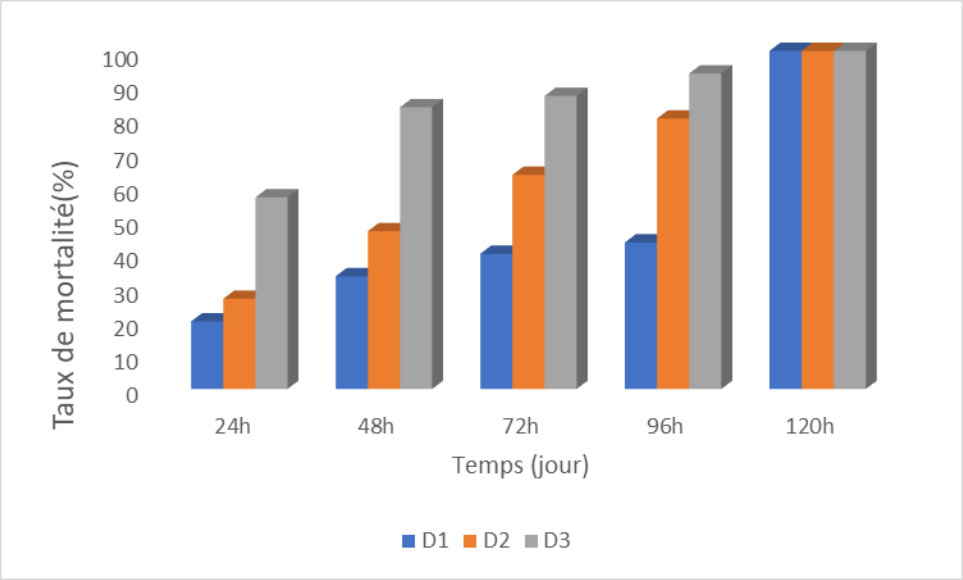


Figure36: *Activité insecticide de l'huile essentielle de* Pistacia lentiscus *dose (D1 D2 D3: 25 µl; 50 µl et 75 µl) sur le* Tribolium confusum.

II.1.2. Effet insecticide de l'huiles essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum*

Les résultats de taux de mortalité des adultes de *T. confusum* traités par l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sont présentés dans le tableau 2 (annexe) et illustrés par la figure 37

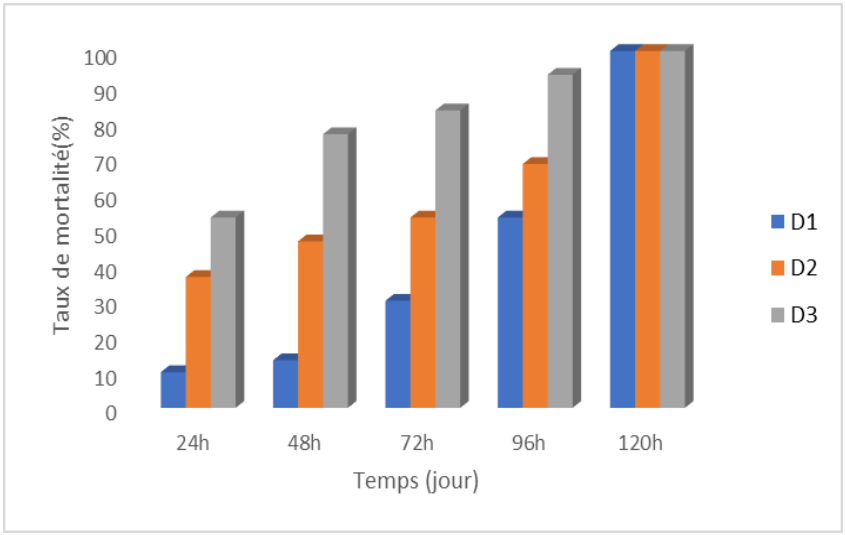


Figure37: Activité insecticide de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* dose (D1 D2 D3: 25 µl; 50 µl et 75 µl)sur le *Tribolium confusum.*

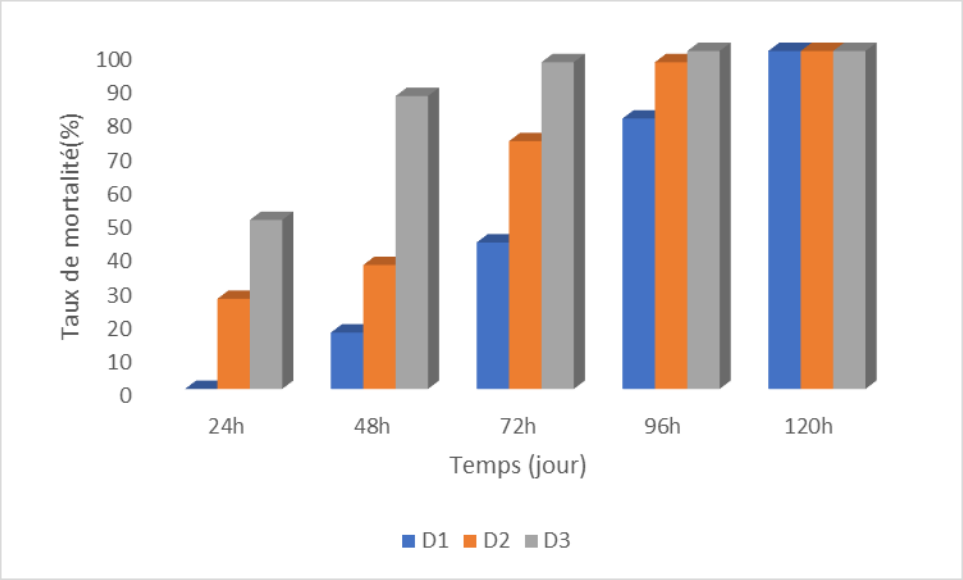


Figure38: Activité insecticide de l'huile essentielle de *Mentha spicata* dose (D1 D2 D3: 25 µl; 50 µl et 75 µl)sur le *Tribolium confusum*.

Les résultats de la présente étude, déterminent le taux de mortalité du Tribolium confusum sous l'effet des différentes huiles essentielles appliqués suivant un gradient de concentration (3 concentrations : 25 µl ; 50 µl et 75 µl).

En référence aux pourcentages de mortalité, les résultats montrent que les différentes huiles essentielles aux trois concentrations affichent une toxicité remarquable sur les individus de *Tribolium confusum* par rapport aux témoins.

Pour l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* nous avons enregistré un taux de mortalité de 100 ٪ des adultes de *T. confusum* avec la dose 75 µl après 120 h d'exposition. Nous avons enregistré un taux de mortalité de 93% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 80% à la dose 50 µl et un taux de mortalité de 43% à la dose 25 µl après 96 h d'exposition. Après 72 h d'exposition, nous avons signalé un taux de mortalité de 86% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 63% à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 40% à la dose 25 µl. Au deuxième jour de traitement, nous avons noté un taux de mortalité de 83% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 46% à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 33% à la dose 25 µl. Nous avons constaté un taux de mortalité de 56% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 26 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 20% à la dose 25 µl après 24 h d'exposition

Pour l'huile essentielle de *Citrus sinensis* nous avons enregistré un taux de mortalité de 100 ٪ des adultes de *T. confusum* avec la dose 75 µl après 120 h d'exposition. Nous avons enregistré un taux de mortalité de 93% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 68 % à la dose

50 µl, un taux de mortalité de 53% à la dose 25 µl après 96 h d'exposition. Après 72 h d'exposition, nous avons signalé un taux de mortalité de 83% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 53 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 30% à la dose 25 µl . Au deuxième jour de traitement, nous avons noté un taux de mortalité de 76% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 46 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 13% à la dose 25. Nous avons constaté un taux de mortalité de 53% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 36 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 10% à la dose 25 µl après 24 h d'exposition.

Pour l'huile essentielle de *Mentha spicata* nous avons enregistré un taux de mortalité de 100 ٪ des adultes de *T. confusum* avec la dose 75 µl après 120 h d'exposition. Nous avons enregistré un taux de mortalité de 100% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 96 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 80% à la dose 25 µl après 96 h d'exposition. Après 72 h d'exposition nous avons signalé un taux de mortalité de 96% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 73 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 43% à la dose 25 µl. Au deuxième jour de traitement, nous avons noté un taux de mortalité de 86% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 36 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 16% à la dose 25 µl. Nous avons constaté un taux de mortalité de 50% à la dose 75 µl, un taux de mortalité de 26 % à la dose 50 µl, un taux de mortalité de 0% à la dose 25 µl après 24 h d'exposition.

II.1.4. Analyse de la variance de l'efficacité de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses

Les résultats de l'analyse de la variance sont portés sur les tableaux 4, 5 et 6

Tableau 4 : effet de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum* à dose D1

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	958,3	319,4	0,22	0,881
Erreur	8	11733,3	1466,7		
Total	11	12691,7			

D'après le tableau 4, nous constatons qu'il y a une différence non significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* à la D1($Pr \geq 0,05$)

Tableau 5 : effet de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscue* sur les adultes de *T. confusum à* dose D2

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	4692	1563,9	2,09	0,181
Erreur	8	6000	750		
Total	11	10692			

D'après le tableau 5, nous constatons qu'il y a une différence non significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle *de Pistacia Lentiscus* à la D2 (Pr≥ 0,05)

Tableau 6 : effet de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur les adultes de *T. confusum à* dose D3

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	2333	777,8	3,73	0,06
Erreur	8	1667	208,3		
Total	11	4000			

D'après le tableau 6, nous constatons qu'il y a une différence significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* à la D3(Pr≥ 0,05)

II.1.5. Analyse de la variance de l'efficacité de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses

Les résultats de l'analyse de la variance sont portés sur les tableaux **7, 8 et 9**

Tableau 7 : effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* à dose D1

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	25	8,333	0,33	0,802
Erreur	8	200	25		
Total	11	225			

D'après le tableau 7, nous constatons qu'il y a une différence non significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Citrus sinensis* à la D1(Pr≥ 0,05)

Tableau 8 : effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* à dose D2

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	891,7	297,2	0,3	0,827
Erreur	8	8000	1000		
Total	11	8891,7			

D'après le tableau 8 , nous constatons qu'il y a une différence non significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Citrus sinensis* à la D2(Pr≥ 0,05)

Tableau 9 : effet de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. confusum* à dose D3

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	2033	677,8	5,08	0,029
Erreur	8	1067	133,3		
Total	11	3100			

D'après le tableau 9, nous constatons qu'il y a une différence significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Citrus sinensis* à la D3(Pr≥ 0,05).

II.1.4. Analyse de la variance de l'efficacité de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses

Les résultats de l'analyse de la variance sont portés sur les tableaux 10,11 et 12

Tableau 10 : effet de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* à dose D1

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	10967	3655,6	13,71	0,002
Erreur	8	2133	266,7		
Total	11	13100			

D'après le tableau 10, nous constatons qu'il y a une différence non significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Mentha spicata* à la D1(Pr≥ 0,05).

Tableau 11 : effet de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* à dose D2

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	9500	3166,7	4,04	0,051
Erreur	8	6267	783,3		
Total	11	15767			

D'après le tableau 11, nous constatons qu'il y a une différence significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Mentha spicata* à la D2(Pr≥ 0,05).

Tableau 12 : effet de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur les adultes de *T. confusum* à dose D3

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
TEMPS	3	4733	1577,8	6,53	0,015
Erreur	8	1933	241,7		
Total	11	6667			

D'après le tableau 12, nous constatons qu'il y a une différence significative entre le taux de mortalité des adultes témoins comparativement aux traités à l'huile essentielle de *Mentha spicata* à la D3(Pr≥ 0,05).

II.1.5. Analyse de la variance de l'efficacité des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses à 48h et 96h

Les résultats de l'analyse de la variance sont portés sur les tableaux 10 et 12

Tableau 13 : Effet des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses à 48 h

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
SDOSES	8	18267	2283,3	3,54	0,012
Erreur	18	11600	644,4		
Total	26	29867			

Tableau 14 : Effet des trois l'huiles essentielles sur les adultes de *T. confusum* aux trois doses à 96h

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
SDOSES	8	19785	2473,1	4,87	0,003
Erreur	18	9133	507,4		
Total	26	28919			

II.1.6Détermination des DL50

Après les transformations faites sur les doses en logarithmes décimaux, et les valeurs de pourcentages des mortalités corrigées en Probits, nous avons tracé les droites de régression avec ses équations. Ceci nous permet de déterminer les DL50 pour les adultes de *T. Confusum* pour chaque huile utilisée.

II.1.7. Efficacité des trois huiles essentielles vis-à-vis les adultes de *T. Confusum*

Les résultats de l'efficacité des trois huiles essentielles sur les adultes de *T. Confusum* sont portés sur les tableaux?, ?, et ? (Annexe) et illustrés par (fig.?, ? et ?).

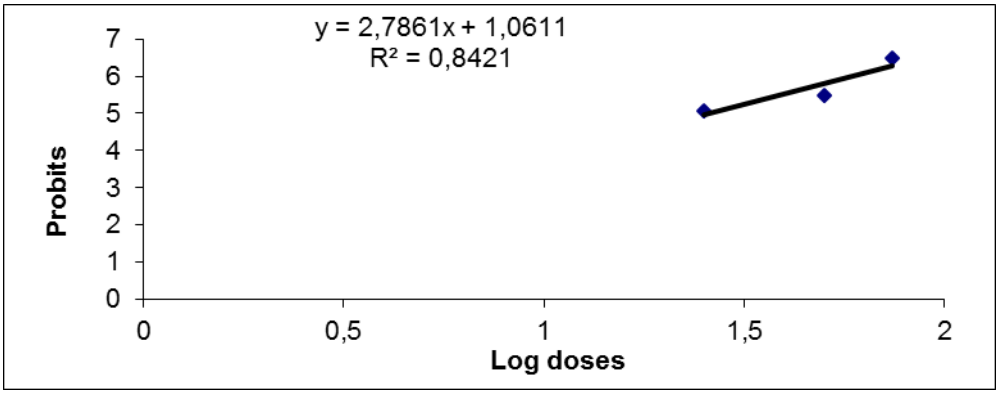


Figure 39 : Efficacité de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* vis-à-vis des adultes de *T. Confusum*

La DL50 de traitement par l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. Confusum* au 4ème jour est égale à 23,35 µl

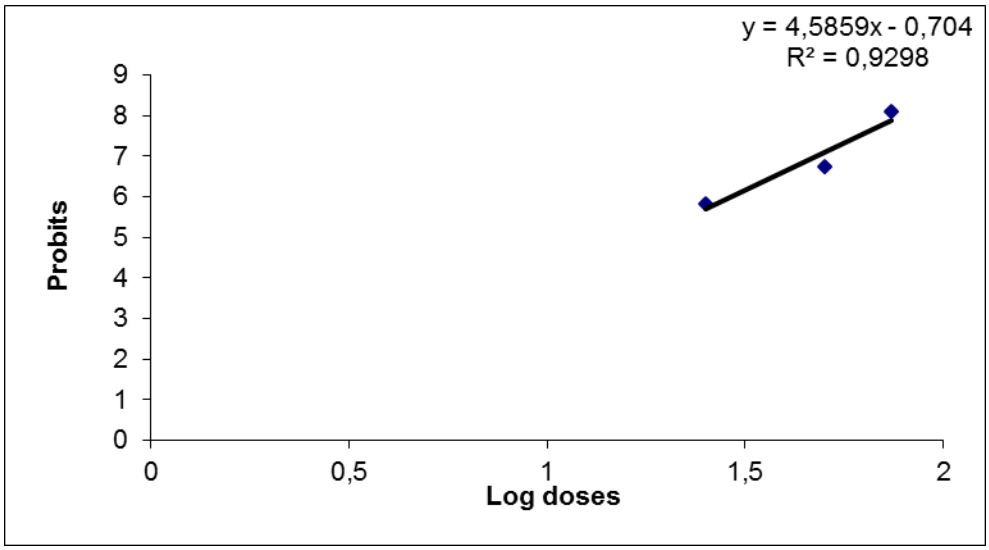


Figure 40 : Efficacité de l'huile essentielle de *Mentha spicata* vis-à-vis des adultes de *T. Confusum*

La DL50 de traitement par l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. Confusum* au 4ème jour est égale à 17.32 µl

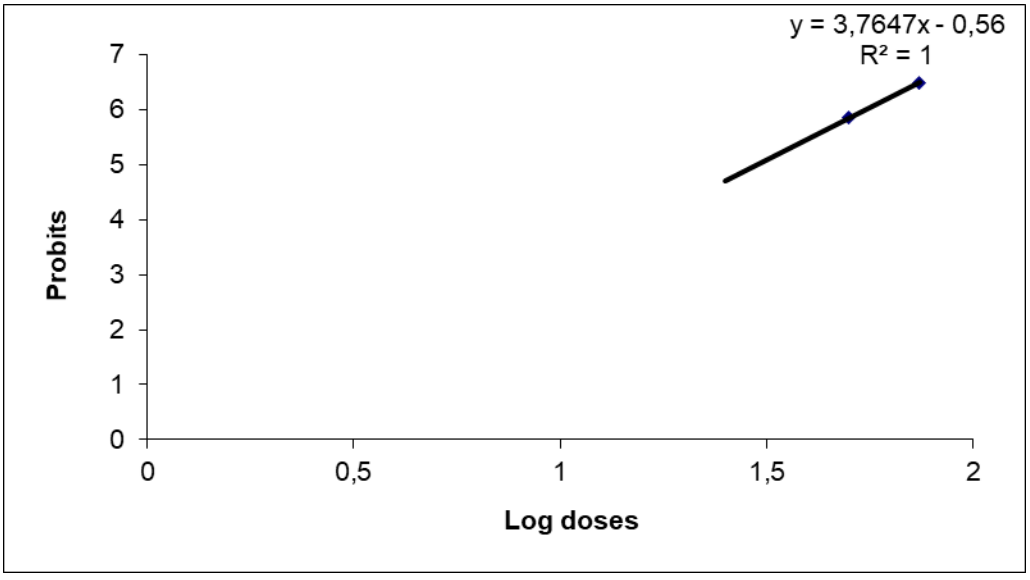


Figure 41 : Efficacité de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscue* vis-à-vis des adultes de *T. Confusum*

La DL50 de traitement par l'huile essentielle de *Citrus sinensis* sur les adultes de *T. Confusum* au 4ème jour est égale à 29.40 µl

III .Activité anti-microbienne des huiles essentielles

III.1. Activité antifongique des huiles essentielles

III.1.1. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur *Fusarium* spp

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha spicata* sur *Fusarium* spp sont présentés dans le tableau 4(annexe) et illustré sur la figure 42

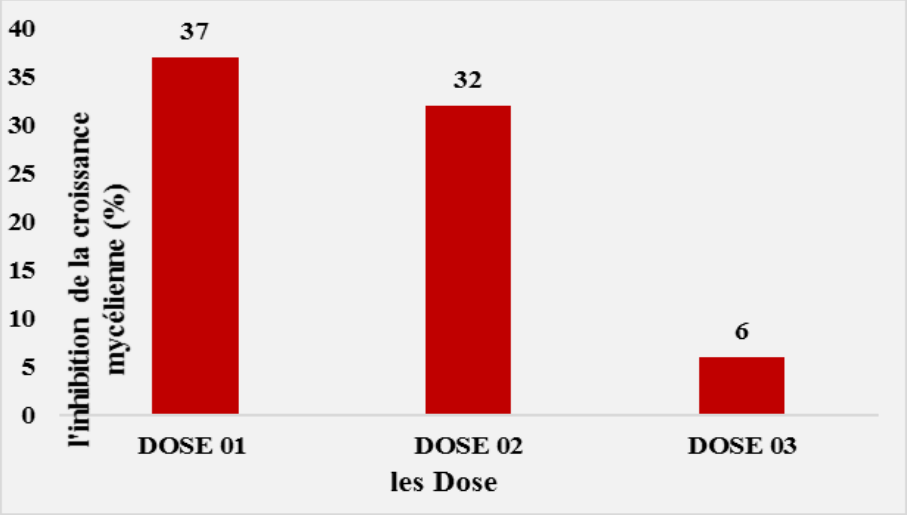


Figure42: Effet de la concentration d'huile essentielle de *mentha spicata* sur la croissance mycélienne

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium sp* à varie avec

L'augmentation de la dose d'huile essentielle. Nous avons constaté une activité antifongique moyenne (37% et 32%) respectivement à la **dose D1** et à la **dose D2.** Quant à la **dose D**3, l'activité antifongique est faible avec 6%.

III.1.2. Activité antifongique de l'huile essentielle de *pistacia lentiscus* sur *Fusarium spp*

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de ***pistacia lentiscus*** sur *Fusarium* spp sont présentés dans le tableau 5 (annexe) et illustré sur la figure 43

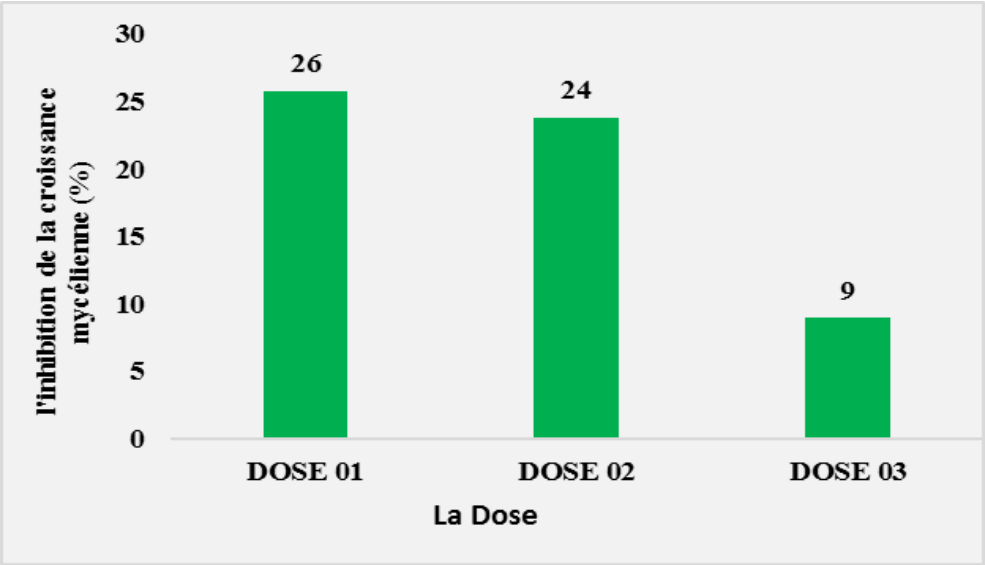
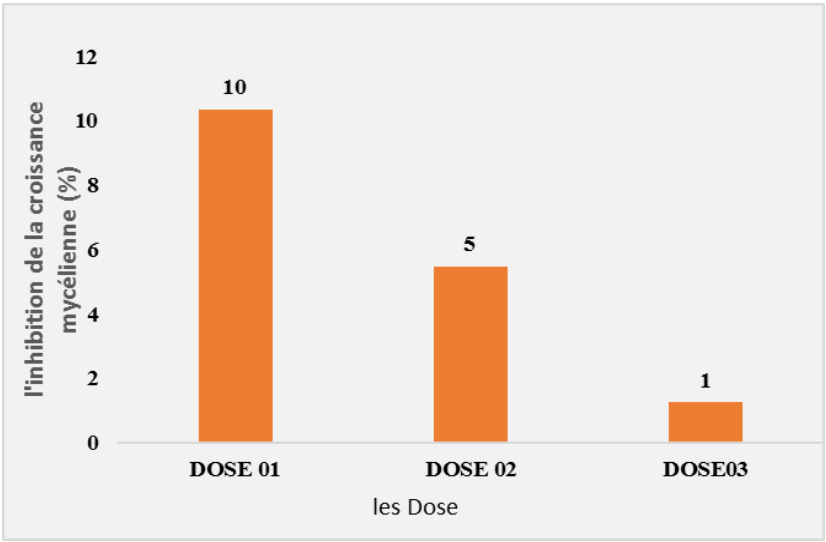


Figure43 : Effet de la concentration d'huile essentielle de *pistacia lentiscus* sur la croissance

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de Fusarium sp à varie avec l'augmentation de la concentration d'huile essentielle. Nous avons constaté une activité antifongique moyenne (26% et 24%) respectivement à la **dose D1** et à la **dose D2.** Quant à la **dose D**3, l'activité antifongique est faible avec 9%.

III.1.3. Activité antifongique de l'huile essentielle de *citrus sinensis* sur *Fusarium spp*

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *citrus sinensis* sur *Fusarium* spp sont présentés dans le tableau 6 (annexe) et illustré sur la figure 44



Figur44: Effet de la concentration d'huile essentielle de citrus sinensis sur la croissance mycélienne de Fusarium sp.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de Fusarium sp à varie avec l'augmentation de la concentration d'huile essentielle. Nous avons constaté une activité

antifongique faible (10% et 5%) respectivement à la **dose D1** et à la **dose D2.** Quant à la **dose D**3, l'activité antifongique est plus faible avec 1%.

IV.Préparation de la souche bactérienne

IV.1. La revivification et repiquage de la souche bactérienne

La revivification des souches, une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle à l'état conserve, cette revivification a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle se fait en réalisant un repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance. En premier, la souche de référence a été sortie du réfrigérateur et déposée sur la paillasse pour revenir à la température ambiante. Puis, on a ensemencé par stries les boites de milieu NAS et incubées à 27°C pondent 24 heure. Ce repiquage a permis d'obtenir des colonies distinctes, à aspecte Bombé, blanche et brillante.

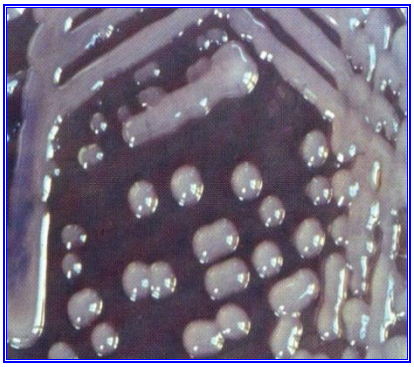


Figure 45: Aspect macroscopique des colonies la souche *Erwinia amylovora*

a.Test biochimique

Plusieurs tests sont effectués pour identifier la bactérie ***Erwinia amylovora***

b.Test KOH

Après le mélange de la crémé bactérienne avec la solution KOH 3 % à la l'aide d'une pipette pasteur, on a soulevé à 2 cm la crème obtenue. Ensuite, on observe la formation d'un filament visible à l'œil à nu (agglutination) que résulte à cause de la formation d'un complexe ADN + KOH

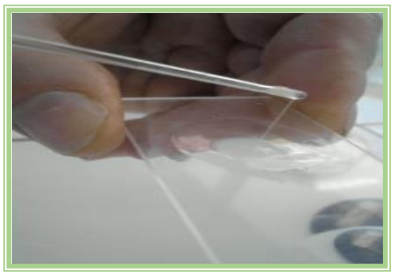


Figure 46: résultat obtenue de teste KOH (positif) (Gram-).

c.Test d'Hugh et Leifson (H&L)

Le test d'Hugh et leifson, par le changement de couleur dans les deux tubes, a affirmé que la bactérie testée est fermentative.

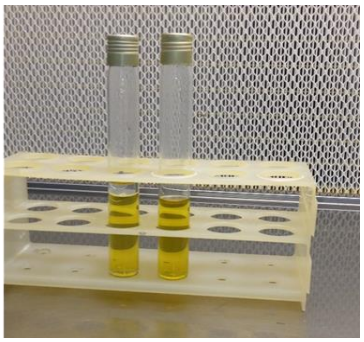


Figure 47: résultat obtenue de test d'Hugh et Leifson.

d.Test d'Oxydase:

L'absence d'une coloration rose pâle à violet sur le disque de papier filtre montre que la souche étudiée ne synthétise pas de cytochrome C oxydase.



Figure 48: teste d'oxydase (négatif).

Milieu Levane (NAS):

Résultat: Les colonies sont bombées, blanches et brillantes le test est positif.



Figure 49: Les colonies de *Erwinia amylovora*

e.Test de Catalase:

Le teste a mis en évidence le dégagement d'oxygène pour la souche de *Erwinia amylovora* taste.

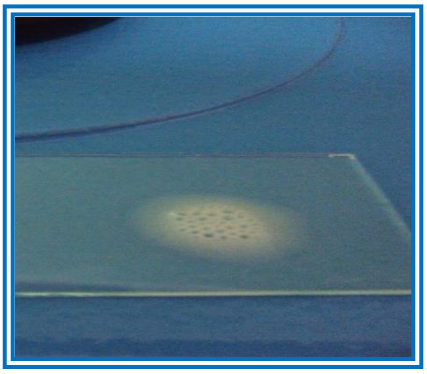


Figure 50: Taste de catalase (positif).

f.Test d'hypersensibilité sur Tabac:

La présence d'une tache nécrotique correspond à la zone infecte et indiquant le caractère phytopathogène des bactéries



Figure 51: Test d'hypersensibilité sur Tabac (positif)

IV.2. Identification de la souche bactérienne étudiée

Les résultats culturaux et morphologiques des colonies bactériennes développées sur milieu spécifique (NAS), ainsi que les résultats des test biochimique et d'hypersensibilité effectués ont permis l'identification de la souche étudiée comme étant une souche appartenant à l'espèce de *Erwinia amylovora*.

Tableau 15 : spectre de réponse des déférente teste d'identification de la souche bactérienne.

Bactéries Phytopathogènes	HR	Gram	H&L	C.O	Catalase	Levane
Erwinia amylovora	+	-	F	-	+	+

IV.3. Evaluation de l'activité antibactérienne in *vitro* des huiles essentielles testées

IV.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle de *citrus sinensis*

Les résultats sont présentés à travers les figures suivantes

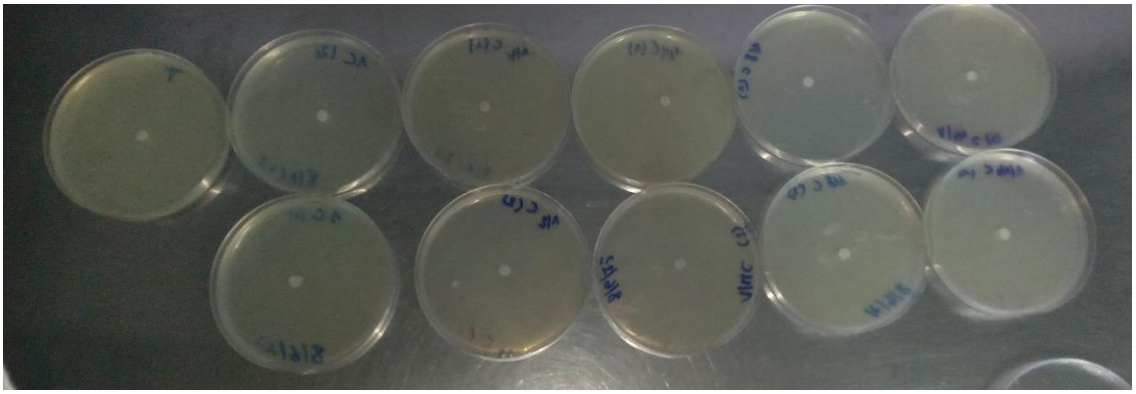


Figure 52 : effet d'huile essentielle *citrus sinensis sur Erwinia amylovora* après 72h

IV.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle de *pistacia lentiscus*

Les résultats obtenus sont présentés sur les figures suivantes

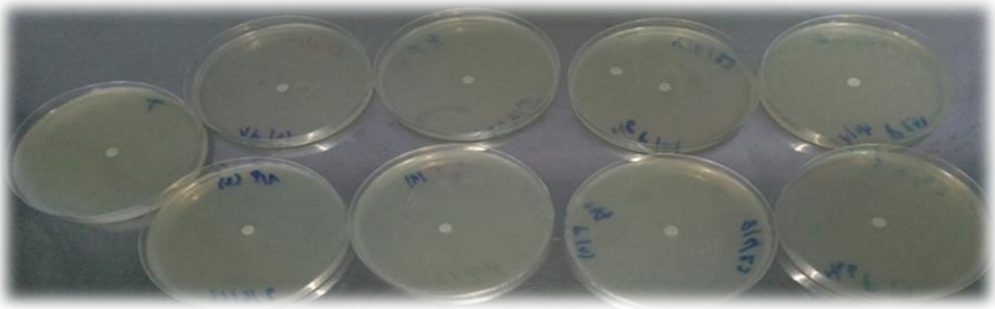


Figure 53 : effet d'huiles essentielle pistacia *lentiscus sur Erwinia amylovora* après 72h

IV.3.3. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle *mentha spicata*

Les résultats obtenus sont présentés sur les figures suivantes

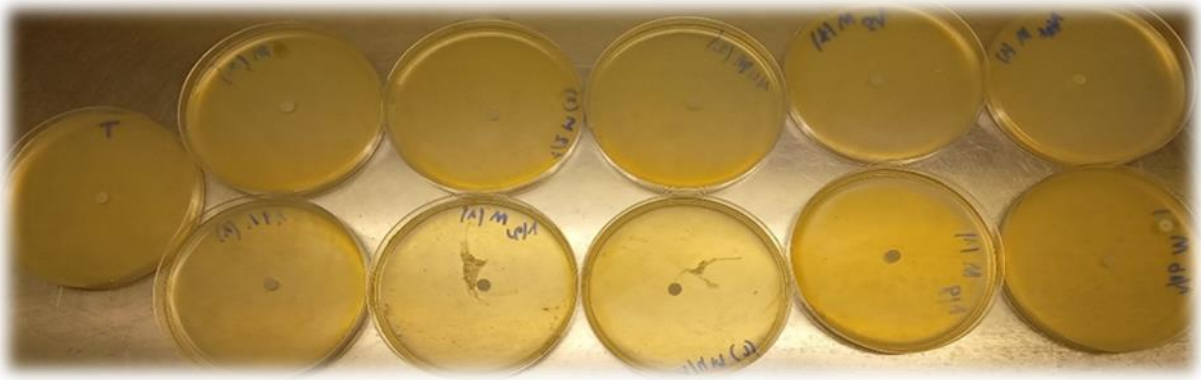


Figure 54 : effet d'huile essentielle *mentha spicata sur Erwinia amylovora* après 72h

IV.4. Evaluation de la concentration minimal d'inhibition CMI pour E.A traités par les trois huiles essentielles

La détermination de la concentration minimale d'inhibition (C.M.I) des huiles testées s'est basée sur l'étude de l'inhibition de la croissance bactérienne aux concentrations suivante :

Pour le *mentha spicata, pistacia lentiscus* et *citrus sinensis,* on a une D1 (126.76ul/ml), D2 (1/2), D3(1/4), D4(1/8) et D5(1/16)

En se basant sur l'observation et le calcul des diamètres des zones d'inhabitation des différentes concentrations. Les CMI enregistrées pour le *Pistacia Lentiscus* est à la D4 (1/8). Mais, elle est à la D5 (1/16) pour *Mentha Spicata* et *Citrus Sinensis.*

IV.5.Effet de l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles sur le développement d'*E.amylovora*

IV.5.1. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha Spicata* sur *E. Amylovora*

Les résultats de l'activité antibactérienne de huile essentielle *Mentha Spicata* sur le développement d'*E. Amylovora* sont présentés dans les tableaux7 , 8 et 9 et illustré sur les figure 55, 56 et 57

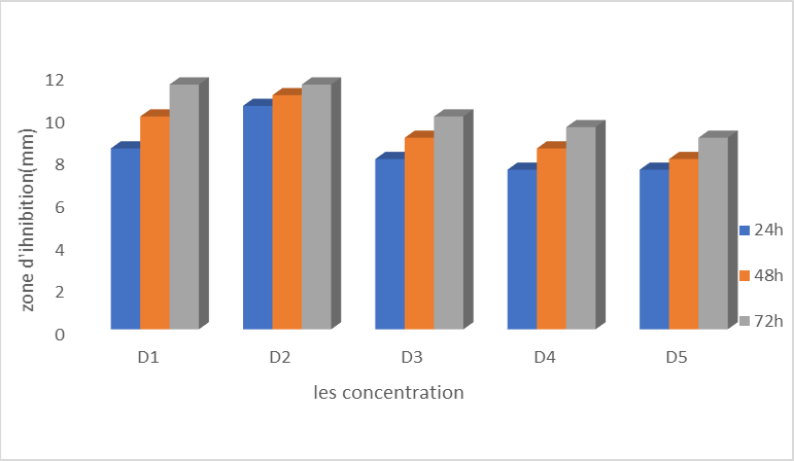


Figure 55: Effet de l'huile essentiel de mentha spicata sur le développement d'*E. Amylovora*

IV.5.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur *E. Amylovora*

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* sur *E. amylovora* sont présentés dans le tableau 8 (annexe) et illustré sur la figure 56

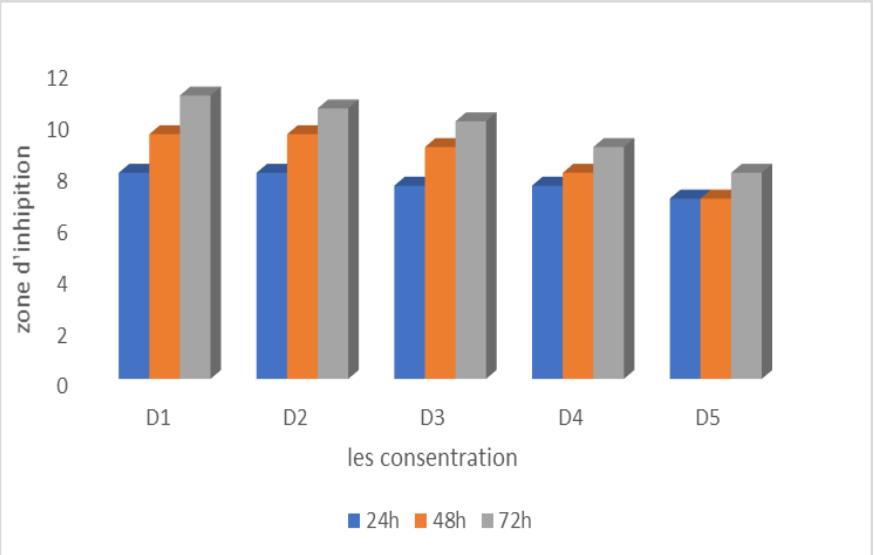


Figure56 : Effet de l'huile essentiel de *Pistacia Lentiscus* sur le développement d'*E.Amylovora*

IV.5.3. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus Sinensis* sur *E. Amylovora*

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *citrus sinensis* sur ***E. Amylovora*** *sont* présentés dans le tableau 9(annexe) et illustré sur la figure 57

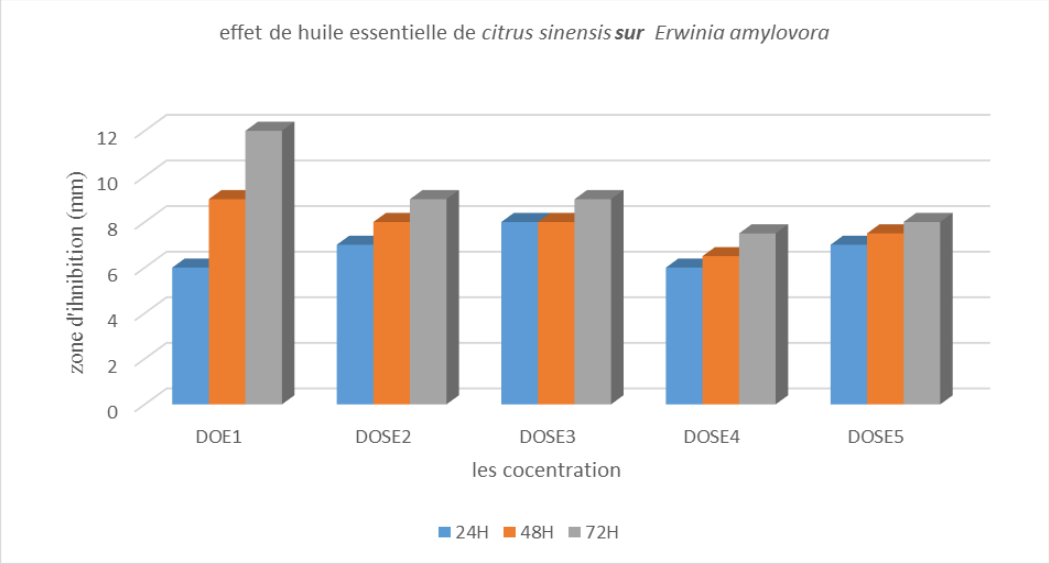


Figure57: Effet de l'huile essentiel de *Citrus Sinensis* sur le développement d'E. Amylovora

L'effet de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* sur *Erwinia Amylovora* a donné une zone d'inhibition avec un diamètre de 11 mm avec D1 et un diamètre de 10,5 mm avec D2 et un diamètre de 10 mm avec D3 et un diamètre de 9 mm avec D4 et un diamètre de 8mm avec D5, donc on peut constater que E. amylovora est sensible pour toutes les concentrations de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus*

L'effet de l'huile essentielle de *Mentha Spicata* sur *Erwinia Amylovora* a donné une zone d'inhibition avec un diamètre de 11,5 mm avec D1 et un diamètre de 11,5 mm avec D2 et un diamètre de 10 mm avec D3 et un diamètre de 9,5 mm avec D4 et un diamètre de 9mm avec D5, donc on peut constater que *E. Amylovora* est sensible pour toutes les concentrations de l'huile essentielle de *Mentha Spicata*

L'effet de l'huile essentielle de *Citrus Sinensis* sur *Erwinia Amylovora* a donné une zone d'inhibition avec un diamètre de 12 mm avec D1 et un diamètre de 9 mm avec D2 et un

diamètre de 9 mm avec D3 et un diamètre de 7,5 mm avec D4 et un diamètre de 8mm avec D5, donc on peut constater que *E. Amylovora* est sensible pour toutes les concentrations de l'huile essentielle de *Citrus Sinensis*

L'étude de l'activité antibactérienne des différentes concentrations des trois huiles essentielles étudiées sur notre souche bactérienne montre que toutes les concentrations des trois huiles essentielles possèdent une activité antibactérienne surtout pour la Dose1 Dans le temps 72h.

V.2. Discussion

V.2.1. Screening phytochimique

Notre étude phytochimique réalisé sur la plante *Mentha Spicata* et *Pistacia Lentiscus L* confirme les résultats trouvés par d'autres travaux, à savoir la présence de certaines familles chimiques. Par contre, on constate qu'il y absence d'autres familles chimiques. Ceci peut être expliqué par une différence au niveau de plusieurs paramètres soient géographiques, physicochimiques ou biologiques tels que : la différence du site de récolte y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, type de sols, période de récolte, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction utilisée, la partie de la plante étudiée ou leurs produits phytochimique **(EL-Haoud, 2018)**

L'étude phytochimique qualitative de divers extraits de feuilles, de *M. arvensis* a montré la présence de différents composés phytochimique, tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des polyphénols, des tanins, des glycosides cardiaques, ce qui indique leur distribution dans la plante entière. Le test des saponines a montré leur absence dans les extraits de feuilles, de tiges et de racines. **(Malik ,2012)**

D'autre auteure tel que **(BAMMOU, 2014)** note la présence des substances polyphénoliques dont les tanins chatéchiques et galliques, des flavonoïdes (anthocyanes, flavones et leucoanthocyanes), des stérols et triterpènes, des saponosides et en fin les composés réducteurs (oses, holosides et mucilage). L'absence totale des hétérosides cyanogénétiques diminue fortement les risques toxicologiques liés à l'usage de *Pistacia Lentiscus L*

V.2.2. Effet des trois huiles essentielles sur le la mortalité des adultes de *tribolium confusum*.

La présente étude montre que les huiles essentielles des *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis et Mentha Spicata* sont efficaces comme un moyen dans la protection des denrées stockées contre les attaques de *Tribolium Confusum.* Les effets toxiques et répulsifs de ces végétaux dépendent de plusieurs facteurs, entre autres leur composition chimique et le niveau de sensibilité des insectes.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus sur le bruche du haricot par de nombreux auteurs notamment **(GOUCEM Née , 2014)** et **(TAYEB BEY et, *al* 2022)** ont montré que les huiles essentielles de nombreuses plantes médicinales aromatiques ont un effet insecticide par inhalation mais aussi par répulsion.

Effets toxiques et répulsifs de ces huiles essentielles pourraient dépendre de ses compositions chimiques et du niveau de sensibilité des insectes **(Casida, 1990).** Cependant, il serait difficile de penser que l'activité insecticide de l'huile se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires ; elle pourrait aussi être due à certains constituants minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants **(Ndomo et al., 2009).**

V.2.3. Effet des trois huiles essentielles sur la croissance mycélienne de *Fusarium sp*

Les résultats de l'activité antifongique « in vitro » d'HE des *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis et Mentha spicata* obtenu à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose montrant que l'activité antifongique de l'HE des *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis et Mentha Spicata* est en fonction du champignon cible.

L'huile essentielle des *Pistacia Lentiscus, Citrus Sinensis et Mentha Spicata* a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis de *Fusarium* sp, les diamètres de la croissance de mycélium sont diminué à chaque fois qu'on augmente la concentration d'huile essentielle.

L'activité antifongique des HE était due à la présence de terpènes existant dans les HE. Ce composant passe les membranes cellulaires, pénètre à l'intérieur de la cellule et interagit avec les sites intracellulaires (**Van Hung et al ;2013)**

L'huile essentielle a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des champignons. Les deux souches fongiques ; *Fusarium oxysporum f. sp*. *Albedinis.* Les deux souches fongiques ; Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis ont été inhibées à partir de la concentration minimale 1/2000 v/v et la concentration de 1/3000 v/v a été suffisante pour arrêter la croissance de *Alternaria sp* (**Boughendjioua H ,2019)**

(**Van Hung P et *al* ;2013)** rapportent que Les HE de C. sinensis et C. reticulata Blanco ont montré des réductions inférieures à celle de C. grandis Osbeck et C. aurantifolia Swingle

(34,9 % et 39,3% d'inhibition). La plus forte réduction de la croissance mycélienne de F. proliferatum a été enregistré dans C. aurantifolia Swingle EO (91,5 % d'inhibition

Autres auteurs ont rapporté que la présence de composants tels que le D-limonène, le linalol ou le citral provoque le pouvoir antifongique des HE d'agrumes **(Alma et, *al,* 2004).** Citral peut former un transfert de charge complexe avec un donneur d'électrons aux cellules fongiques, ce qui entraîne la mort fongique (**Kurita, et *al.*, 1981).**

V.2.4. Effet des trois huiles essentielles sur *Erwinia Amylovora*

L'huile essentielle des feuilles fraiches de *C. aurantium* L a une excellente activité contre tous les micro-organismes testés. Une activité inhibitrice est observée pour *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de12mm pour 30 µl d'HE **(Benabdi, 2019)** et 12.33 ± 1.52 **(Ouedrhiri et *al.*, 2015).** Le pouvoir antibactérien de cette HE est retrouvé également pour *B. subtilis* avec un DI de 14.33 ± 1.52 **(Ouedrhiri et *al.*, 2015)**

L'huile essentielle des feuilles fraiches de *C. Sinensis* est inhibitrice à la rencontre de *Bacillus subtilis* DI 25 mm **(Kaibi, 2016)** et DI de 85.0 ± 0.0 **(Sheila et *al.*, 2012).** Le DI à l'encontre de *S. aureus* est de 21.5 ± 1.1 (Sheila et al., 2012). Aucun diamètre d'inhibition n'est observé vis-à-vis d'E. *Coli*.

La différence observée dans la sensibilité des différents micro-organismes d'essai pour l'essentiel examiné l'huile était due à la différence dans la structure de la paroi cellulaire et composition des deux groupes de bactéries. La présence d'une membrane externe chez les bactéries Gram-négatives empêche la diffusion de l'huile essentielle à travers la membrane au cytoplasme de la cellule, les rendant plus résistantes à l'action de l'huile (**Desislava, 2019)**

Les résultats obtenus pour les différentes résistances des bactéries Gram-positives et Gram-négatives aux inhibiteurs de la croissance microbienne étaient conformes aux données de la littérature. La plus grande activité antimicrobienne de l'huile essentielle par rapport au limonène – synthétique monoterpène peut résulter soit de l'action synergique du mélange de terpènes, soit de l'action de composés non volatils, autres que les monoterpènes, présent dans l'huile essentielle de zeste de Citrus aurantium L. **(Desislava, 2019)** rapportent que des résultats conformes aux nôtres ont été déduits récemment par Brahmi et al. (2016) dont l'HE du M. spicata, originaire de l'Algérie, a exercé un effet inhibiteur sur les souches du S. aureus (14,3 ± 1,5 mm) et E. Coli (11,0 ± 1mm) et d'autres espèces de bactéries.

(ZEKRI,2017) rapportent que Les HE des trois menthes ont montré une moyenne ou une bonne activité antibactérienne ; ceci est prouvé également dans la littérature sur des HE de certaines Lamiacées **(Mimica et *al.*, 2003 ; Delamire et *al.*, 2007**) citée **(ZEKRI ,2017)**

L'HE de *Pistacia lentiscus L*. n'a aucun effet sur *Escherichia coli*, Klebsiella pneumoniae et Proteus mirabilis ; seul Staphylococcus aureus laisse voir une légère sensibilité (diamètre d'inhibition : 10±1.00 mm) qui reste en fait inferieure à l'effet de la Gentamicine (**Bammou et *al* 2014)**

D'autre auteure montre que cette activité pourrait être attribuée aux composés des HE et particulièrement aux mono terpènes. En plus, les composés phénoliques sont signalés avoir un niveau élevé d'activité antibactérienne **(Sivropoulou et *al.*, 1995).** D'après **(Tepe et *al.*,2005),** les composés phénoliques des HE montrent la plus forte activité antibactérienne, suivis d'aldéhydes, de cétones et d'alcools. **Citée (ZEKRI ,2017).**

Conclusion

VI. Conclusion

L'Algérie est un lieu caractérisé par la présence d'une végétation variée représentant l'importance biologique conduisant à ses diverses composantes. Ces ingrédients sont formés de particules qui peuvent être utilisées comme pesticides chimiques, avec des effets négatifs sur les humains, les animaux et l'environnement.

Pour une meilleure protection de l'environnement, il y a l'apparition d'utilisation des huiles essentielles des plantes par les méthodes biologiques modernes remplaçant les insecticides chimiques pour lutter contre certaines maladies fongiques et blessure des insectes, parce qu'ils contiennent des matières efficaces sans avoir des effets indésirables sur les produits agricoles ou l'environnement.

Notre travail a pour but d'étudier l'effet des huiles essentielles des plantes : *Pistacia Lentiscus, Citrus sinensis* et *Mentha Spicata,* sur le *Tribolium Confusum*., sur les adultes de *T. confusum* et sur le champignon *Fusarium spp* et la bactérie *Erwinia Amylovora*.

L'huile essentielle *de Mentha Spicata* est la plus efficace sur *T. Confusum*. Elle a engendré une mortalité de 100 ٪ après 72 h d'exposition pour la dose 75 µl., alors que pour *Pistacia Lentiscus et Citrus sinensis* ce même taux n'a été enregistré qu'après 120 h de traitement uniquement pour la dose 75 µl..

L'huile essentielle *de Mentha Spicata* est la plus efficace sur *Fusarium spp*

En pourcentage de 37% d'inhibition de croissance mycélienne après 7j, alors que pour *Pistacia Lentiscus et Citrus Sinensis* le pourcentage n'a pas dépassé 26% et 10%

L'huile essentielle de *Citrus Sinensis* est la plus efficace sur *Erwinia Amylovora* pour des moyennes des diamètres de zone d'inhibition 12mm (souche sensible), alors que pour *Pistacia Lentiscus* et *Mentha Spicata* pour des moyennes des diamètres de zone d'inhibition valeurs qui n'excèdent pas 10 mm (souche sensible).

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

- Trouver et utiliser d'autres insecticides.

Conclusion

- Choisir des huiles essentielles des végétaux comme insecticides et pour remplacer les insecticides chimiques.
- Continuer les recherches sur d'autres insecticides végétaux à effet toxique sur ces insectes.

Références

Références

ABDELKARIM AYDI (2014). Valorisation de quelques plantes medecinales issues de la flore tunisienne : extraction par co2 supercritique Ecole doctorale : Chimie Industrielle

Ahmed K. Kammoun a, Ahmed E. Altyar b, Haidy A. Gad ; 2021. Comparative metabolic study of Citrus sinensis leaves cultivars basedon GC–MS and their cytotoxic activity. PG 09.

ALEM Fatima Zahra ,(2021) Extraction and analysis by liquid chromatography coupled with mass spectrometry of Lawsonia inermis L. and the study of its anti-melanoma effect .doctorate Interface Chemistry-Biology 141p

Alma, M.H., Nitz, S., Kollmannsberger, H., Digrak, M., Efe, F.T., & Yilmaz, N. (2004). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from the gum of Turkish Pistachio (Pistacia vera L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 3911–3914.

Amina BENABDALLAH ; 2017 Thèse Etude écophysiologique, développement et importance des plantes médicinales du genre Mentha dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie).PG 171.

Amit S. Borade, Babasaheb N. Kale and Rajkumar V. Shete. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACY & LIFE SCIENCES A phytopharmacological review on Lawsonia inermis (Linn.) , Vol. 2, Issue 1: Jan: 2011, 536-541

Ann.Appl. Biol. 89 : 41-45

Barij ; et ; al ;2018. Mentha spicata L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in

Benazzeddine S., 2010. Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de

Bennet RAE ; Billing, 1978-Capsulation and virulence in Erwinia amylovora.

biochemical targets. In: Casida J.E. (ed.). Pesticides and alternatives. Innovative chemical and

Biological Approaches to Pest Control. Amsterdam: Elsevier, pp. 11-22.

BOUGHENDJIOUA H 2019 ,Activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de *Citrus reticulata pg. 55- 57* .

Boulenouar N., Marouf A et Cheriti, A. (2011). Phytopathologie fongique et metabolites secondaires. Annales de l'université de Bechar, n°11, 32-39.

Références

D.C. Stamopoulos, P. Damos, G. Karagianidou. Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae. Volume 43, Issue 4**,** 2007, Pages 571-577

d'Acanthoscelides obtectus (Say)(Coleoptera; Bruchidae). Tropicultura, 27(3), 137-143.

Delobel A et Tran M. (1993). Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Ed. Orstom. Paris. 275, 424p.

des propriétés insecticides des feuilles de Callistemon viminalis (Myrtaceae) contre les adultes

Desislava T, Rositsa D, Bogdan G, Yana H-Ivanova, Aleksandar S Zapryana D and Georgi K, 2019 Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial activity of essential oil from Citrus aurantium L zest against some pathogenic microorganisms

deux insectes ravageurs du blé. Université MOULOUD MAMMERI

deux insectes ravageurs du blé. Université MOULOUD MAMMERI.

Dinesh Babu and R.S. Subhasree Antimicrobial Activities of Lawsonia inermis - A Review Academic Journal of Plant Sciences 2 (4): 231-232, 2009

Doumendji A., Doumandji S., Doumandji B. (2003). Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, 1-22p.

Doumendji A., Doumandji S., Doumandji B. (2003). Cours de technologie des céréales

Egle Milia ;et ;al .2011.

Etebu, et al., 2014. A REVIEW ON SWEET ORANGE (CITRUS SINENSIS L Osbeck): Flatulence. Journal of Traditional and Complementary Medicine xxx (2018) 1e7 pg

-**Gagandeep Chaudhary, Sandeep Goyal , Priyanka Poonia**. Lawsonia inermis Linnaeus: A Phytopharmacological Review , 2010, Vol 2, Issue 2 (91-98)

Ganesan M, Sanjeet K, Laiq-Ur Rahman, ; 2021. Review The traditional uses, phytochemistry and pharmacology of spearmint (Mentha spicata L.) : A review. Volume 278.

GOUCEM .N ,KHELFANE. K 2014. Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles et des poudres de quelques plantes à l'égard de la bruche du haricot Acanthocelides obtectus Say (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) et comportement de ce ravageur vis-à-vis des composés volatils de différentes variétés de la plante hôte (Phaseolus vulgaris L.). THESE DE DOCTORAT Ecologie et Biologie des Populations.

Références

Gretie , 2009. Etat des lieux des connaissances sur les invertébrés continentaux des pays de la Loire ; bilan final. Rapport GRETIA pour le conseil Régional des pays de la Loire. 396P.

H EL-Haoud , M. Boufellous , A. Berrani , H.Tazougart et R.Bengueddour 2018 . PHYTOCHMICAL SCREENING OF A MEDICINAL PLANT: Mentha Spicata L. Université Ibn Tofaïl p226, 233

H EL-Haoud, M. Boufellous, A. Berrani, H. Tazougart et Rachid Bengueddour

HEALTH, DISEASES AND MANAGEMENT. Vol 2(2) PG 38.

Herbert Hof ,2020. The Medical Relevance of Fusarium spp**.** Journal of fungi p11

K. Khiari (2016). Contribution à l'étude des propriétés thermo-physiques de biocarburants de deuxième génération et leur influence sur le comportement des moteurs p 140

Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., & Takahara, Y. (1981). Antifungal activity of components of essential oils. Agricultural and Biological Chemistry, 45, 945–952.

LEPESME P., 1944. Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. Paul le chevalier, Paris.335p.

M. BAMMOU 1, A. DAOUDI 1, I. SLIMANI1, M. NAJEM1, E. Bouiamrine1, J. IBIJBIJEN 1 et L. NASSIRI 1 1 : Équipe de Microbiologie du Sol et de l'Environnement, D 2015.Valorisation du lentisque «Pistacia lentiscus L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien .Journal of Applied Biosciences 86:7966– 7975 ISSN 1997–5902

-M. Charef;et; al ;2008. Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (Quercus), Pistacia lentiscus Seeds Growing in Algeria. pg 921–924

M. Tafrihi, M. Imran, T. Tufail, Tanweer A, G.Caruso, S.Sharma, R. Sharma, M. Atanassova, L. Atanassov, P. Valere T. Fokou, and R. Pezzani1 . 2021 . Review The Wonderful Activities of the Genus Mentha: Not Only Antioxidant Properties . PG 22.

Malik F., S. Hussain, A. Sadiq, G. Parveen, A. Wajid, S. Shafat, R. A. Channa, R.Mahmood , H. Riaz, M. Ismail & F. Yasin Raja. Phyto-chemical analysis, anti-allergic and anti inflammatory activity of Mentha arvensis in animals. African Journal of Pharmacy and Pharmacology.2012;6(9):613-619. www.academicjournals.org/journal/AJPP/article.../C347DAC33059

Références

Martina C, Pedro M, Michele T, Kelli A. Herrlinger, Kristin M. Nieman, CH.Dall'Asta,1 and D. Del Rio ;2016 . Phenolic and Volatile Composition of a Dry Spearmint (Mentha spicata L.) Extract. Volume 21.

Min. L Su Shi. H ,Wu. Q ,Yang. Z, Jinjing. X ,Yong. H, H. Cao (2019) . **Effects of terpinen- 4- ol fumigation on protein levels of detoxification enzymes in Tribolium confusum** Wiley Periodicals, Inc p 1 of 12

Min Liao,2019; Effects of terpinen- 4- ol fumigation on proteinlevels of detoxification enzymes in Tribolium confusum. RESEARCH ARTICLE. PAG 12.

Mr E. BAUDRIN ; 2015. Mentha spicata : Description et Utilisations en thérapeutique et en agriculture comme antigerminatif sur la pomme de terre. Pg 100 .

-**N. Benhammou** ;**F. A and Tatjana K** ;2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. Vol. 2(2). pp. 022-028

Ndomo, A. F., Tapondjou, A. L., Tendonkeng, F., & Tchouanguep, F. M. (2009). Evaluation

Nickolas G. Kavallieratos, 2022. Impact of temperature on life history of two long-term laboratory strains ofTribolium confusum Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) fromGreece and Serbia PAG 06.

Nickolas G. Kavallieratos, Erifili P. Nika, Anna S, Nikoletta N, Maria C. Boukouvala, Catherine T. Ntalaka, Filippo M, Rianasoambolanoro R, Marco Cespi, Diego Romano Perinelli, Angelo C, Giulia B and Giovanni Benelli,2021. Article Developing a Hazomalania voyronii Essential Oil Nanoemulsion for the Eco-Friendly Management of Tribolium confusum, Tribolium castaneum and Tenebrio molitor Larvae and Adults on Stored Wheat.pg 1-13.

Núria P, D. Miñana-Galbis, Susana. M and Juan M. To 2015 Virulence Factors of Erwinia amylovora: A Review International Journal of Molecular Sciences Pp 12836-12854

O'Donnell K, Ward TJ, Robert VA, Crous PW, Geiser DM and Kang S (2015). DNA sequence-based identificationof Fusarium: current status and future directions. Phytoparasitica, 43 (5) : 583-595

pg 226-233

Publications Universitaires, 1-22p.

Références

RUBELLA S. GOSWAMI, H. CORBY KISTLER .2004. Heading for disaster: Fusarium graminearum on cereal crops. journale Molecular Plant Pathology Volume5, Issue64Pages 515-525

Semsar (2013), Effet insecticide de l'huile végétale d'argan (Argania spinosa) à l'égard de

Sitophilus oryzae (Coleoptera ; curculionidae) et Tribolium confusum (Coleoptera ;

T.-HAMITOUCHE (2016). Etude de l'autovaporisation instantanée dans l'intensification de l'extraction de l'huile essentielle du bois de santal Docteur de l'Université de La Rochelle « Discipline : Génie des Procédés ».p 224

technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Tenebrionidae); Université el-harrach , Alger

Van Hung P., Thi Lan Chi P., Thi Lan Phi N., 2013. Comparison of antifungal activities of Vietnamese citrus essential oils, Natural Product Research, Formerly Natural Product Letters, 27 (4,5) (2013) 506-508.

WISSAL D, NAHIDA J, WISSEM MN, MARIEM L, NACEUR H ; 2012. chemical composition of the essential oil of mentha spicata l. from tunisia and its biological activities.

Annexe

Annexe 1

Tableau 01 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium Confusum* traité à l'huile essentielle de *Mentha Spicata* par inhalation

Temps	**Témoin**			**D1**			**D2**			**D3**		
Rép	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
24H	0	0	0	0	0	0	0	2	6	7	3	5
48H	0	0	0	0	1	4	0	3	8	10	6	10
72H	0	0	0	4	3	6	6	6	10	10	9	10
96H	0	0	0	6	8	10	9	10	10	10	10	10
120h	0	0	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tableau 02 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium Confusum* traité à l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscue* par inhalation.

Temps	**Témoin**			**D1**			**D2**			**D3**		
Rép	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
24h	0	0	0	6	0	0	1	1	6	6	7	4
48h	0	0	0	8	1	1	2	6	6	8	10	7
72h	0	0	0	8	3	1	3	10	6	9	10	7
96h	0	0	0	9	3	1	6	10	8	10	10	8
120h	0	0	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tableau 03 : Taux de mortalité cumulée des adultes de *Tribolium Confusum* traité à l'huile essentielle de *Citrus Sinensis* par inhalation

Temps	**Témoin**			**D1**			**D2**			**D3**		
Rép	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
24h	0	0	0	1	1	1	1	5	5	5	6	5
48h	0	0	0	2	1	1	2	5	7	7	9	7
72h	0	0	0	2	1	1	2	5	9	9	9	7
96h	0	0	0	2	1	1	2	6	10	9	10	7
120h	0	0	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Tableau 04 : Activité antifongique des huiles essentielles de *Mentha Spicata* sur *Fusarium* spp

Temps	Témoin			D1			D2			D3		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1j	0,6	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0.7	0,6	0,6
2j	1,9	2,3	2	0,7	0,7	0,7	0,7	1	1,5	2	1,2	1,7
3j	3,2	4	3,3	1,4	1,5	1,5	1	2	3	3,5	3,5	3,4
4j	4,5	5,7	4,6	2,8	2,9	2,8	1,3	3,5	4,5	5	4,2	5,1
5j	7	7	7	3,5	5	0,7	2	5	6,5	6	6,5	7
6j	8	8	8,5	5	6	0,7	3,2	6,5	8	6,8	7,5	8
7j	8,5	8,5	8,5	6	7,5	0,7	4,5	7	8	8	8,5	8,5

Tableau 05 : Activité antifongique des huiles essentielles *Citrus Sinensis* sur *Fusarium spp*

A	Témoin			D1			D2			D3		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1j	0,6	0,6	0,7	0.6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,6
2j	1,9	2,3	2	1,6	2,2	2	2	2	1,4	1,7	2,3	2,5
3j	3,2	4	3,3	3,5	3,9	3,4	3,9	4,2	4,8	3,4	3,5	3,2
4j	4,5	5,7	4,6	5	4,8	5	5,8	6	6	4,9	5	4,4
5j	7	7	7	7	6	6.5	7.5	7.5	7	6	6	5.5
6j	8	8	8,5	7,5	6,5	8	8	8,3	8,2	7,3	7	6
7j	8,5	8,5	8,5	8.5	7	8,5	8,5	8.4	8,4	7,5	7,5	7

Tableau 06 : Activité antifongique des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscue* sur *Fusarium spp*

temps	Témoin			D1			D2			D3		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
1j	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
2j	1,9	2,3	2	1,7	1,2	1,9	2	1,7	0,7	0,9	2	1,5
3j	3,2	4	3,3	3,5	3,1	3	3,5	3,1	1,1	1,5	3,5	3,2
4j	4,5	5,7	4,6	5	4	4,9	4,5	4,5	1,7	2	4	5,9
5j	7	7	7	6	5,5	6,5	7	6,5	2	3,5	7	5
6j	8	8,5	8	8	7	8	7,5	7	3,5	5	7,3	6
7j	8,5	8,5	8,5	8	7,5	8,5	8,5	7	4	5,5	7,5	6,5

Annexe

Tableau 07 : effet des huiles essentielles de *Mentha Spicata* sur la bactérie *Erwinia Amylovora*

Dose	1		(1/2)		(1/4)		(1/8)		(1/16)	
Temps	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
24heure	8	9	10	11	10	6	0,7	8	8	7
48heure	10	10	11	11	10	8	8	9	8	8
72heure	12	11	12	11	10	10	9	10	9	9

Tableau 08 : effet des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscue* sur la bactérie *Erwinia amylovora*

Dose	1		(1/2)		(1/4)		(1/8)		(1/16)	
Temps										
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
24heure	8	8	9	7	7	8	7	8	8	6
48heure	9	10	10	9	9	9	7	9	8	6
72heure	10	12	11	10	10	10	8	10	9	6

Tableau 09 : effet des huiles essentielles de sur *Citrus Sinensis* la bactérie *Erwinia Amylovora*

Dose	1		(1/2)		(1/4)		(1/8)		(1/16)	
Temps										
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
24heure	6	6	6	8	9	7	6	6	8	6
48heure	10	8	8	8	9	7	7	6	8	7
72heure	14	10	10	8	10	8	8	7	8	8

Tableau 10 : Efficacité de *citrus sinensis* vis -vis des adultes de *T. confusum*

Doses		% de mortalité	
Doses (ml/l)	Log dosesX10	MC%	Probits
D1=25	1,4	53,33	5,08
D2=50	1,7	68,33	5,47
D3=75	1,87	93,33	6,48

Tableau 11 : Efficacité de *mentha spicata* vis -vis des adultes de *T. confusum*

Doses		% de mortalité	
Doses (ml/l)	Log dosesX10	MC%	Probits
D1=25	1,4	80,00	5,84
D2=50	1,7	96,67	6,75
D3=75	1,87	100,00	8,09

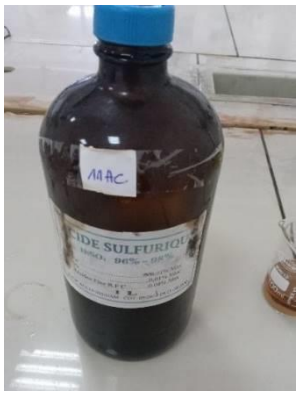
Tableau 12 : Efficacité de *pistacia lentiscue* vis -vis des adultes de *T. confusum*

Doses		% de mortalité	
Doses (ml/l)	Log dosesX10	MC%	Probits
D1=0.025	1,4	43.33	0
D2=0.050	1,7	80	5,84
D3=0,075	1,87	93.33	6.48

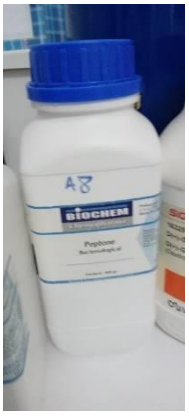
Annexe 2

Les produits chimiques utilisé



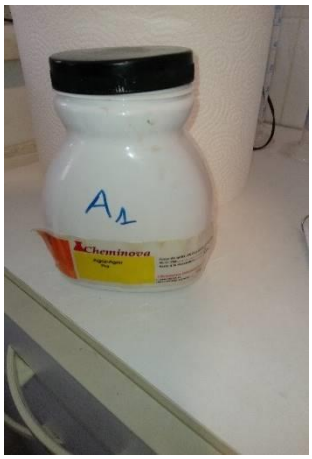


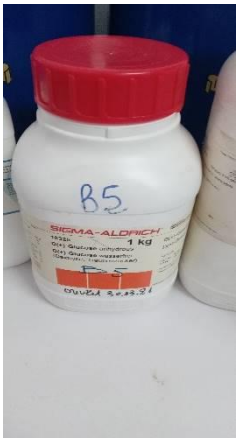




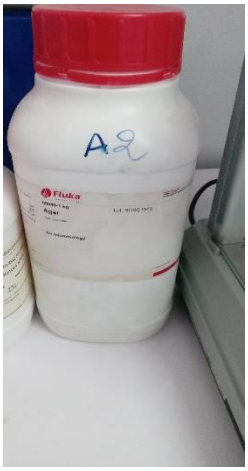


















Annexe 3

Composition des milieux cultures :

1-Milieux L.P.G.A. (Levure-Peptone-Glucose-Agar)

- Extrait de levure……..05g
- Peptone……05g
- Gélose……..15g
- Glucose……10g
- Eau distillée……..01l

Milieu de Hugh et Leifson : H & L

Bacto peptone…….02g

- NaCL……..05g
- KH2PO4……0,3g
- Glucose…….10g
- Bleu de Bromothymol (BBM)…….0,03g
- Eau distillée……...01l

Milieu Levane (NAS):

- Agar nutritive……..28g
- Saccharose……...50g
- Eau distillée……...01g

Annex 4

Les appareilles













