

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة احمد بوقرة بومرداس  
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences

Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue d'obtention du diplôme de Master II en Biologie

Spécialité : Biologie des Organismes et des Populations

*Thème*

**Etude phytochimique du thym *Thymus vulgaris* L.  
(Lamiaceae) et évaluation insecticide de son extrait  
éthanolique brut vis-à-vis de deux insectes, nuisible  
*Aphis fabae* et utile *Apis mellifera***

Présenté par : M<sup>lle</sup> ABBAS Nessrine

M<sup>lle</sup> GUERRICHE Fatma

M<sup>me</sup> Alwan W.

Maître de Conférences B

Présidente

M<sup>me</sup> Bendifallah L.

Maître de Conférences A

Promotrice

M<sup>me</sup> Belguendouze R.

Maître de Conférences B

Co-promotrice

M<sup>r</sup> Belhamana M.

Maître de Conférences B

Examineur

Année Universitaire : 2015/2016

## **Remerciement**

*Tous d'abord, nous tenons à remercier le bon Dieu, de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail pour arriver à ce jour-là.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre promotrice, Madame BENDIFALLAH L. Maitre de conférences à la faculté des sciences, Université M'hamed Bougara Boumerdes, qui a su, à sa façon, nous conseiller et nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Nous avons la chance d'effectuer une partie de ce travail minutieux au niveau de la faculté de biotechnologie Saad Dahlab à Blida. Sous la direction de madame BELGENDOUSE R.*

*Que Madame BELGENDOUSE R. trouve ici l'expression de nos vifs remerciements. Qu'elle trouve ici l'assurance de nos profondes gratitude pour l'aide inestison soutien permanent qui nous ont permis de mener à bien ce travail.*

*Nos remerciements vont également à :*

*Mme ARAB-BOUCHENEK O. pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Les honorables membres du jury et examinatrices Mme AOUS W. de bien vouloir examiner notre travail.*

*Tous nos enseignants qui nous ont suivis durant notre cursus scolaire et universitaire, qui nous ont prodigués connaissances et conseils. Toutes les personnes ayant participé à la réalisation de notre projet de fin d'étude :*

*Tous nos collègues et amis, avec qui nous avons entretenus une ambiance chaleureuse et amicale.*

*Nos vif remerciements et tendres pensées vont à nos très chers parents, pour leur aide.*

*Encouragement, patience et soutien. Enfin à tous ceux qui ont contribué de pris ou de loin à l'accomplissement de notre...*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ceux qui ont sacrifiés toute leur jeunesse pour nous, qui mon toujours encouragé, qui mon soutenus durant toute la longue durée de mes études et qui mon donnés une bonne éducation. Pour tous cela je dédie ce modeste mémoire à mes très chers **parents** à qui je dis aujourd'hui merci et mille fois merci **maman et papa**.*

*A ma moitié irremplaçable ; ma très chère sœur **hakima**  
A mes chère frères **Adal, samir, rheda, amine, mohamed et khaled**  
A toute ma famille*

*A mes amies intimes, **chafia, ikram, rachida, hakima, sabiha, rabiaa, farida, fatiha***

*A mon binôme **fatma**, avec laquelle j'ai partagé les bons moments et à sa famille*

*A tous ceux qui M'ont connu de près ou de loin.*

*A tous les étudiants de ma promotion 2016.*

***NESSRINE***

# DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail*

*A mon seul source de tendresse et d'amour, a mon seul abri de bonheur, a celle je  
Dois toute ma vie et toutes mes réussites, à ma mère.*

*A... la mémoire de mon très chère père qui m'a toujours soutenu durant toutes les  
Périodes de vie*

*A mes très chères sœurs wardia, massouda, wahiba, sajjia, rahma et bouchera*

*A mes chers frères abdellah, mourad et allaadine.*

*A ma grande famille, du petit au grand*

*A ma merveilleuse et exemplaire binôme nessrine, avec laquelle j'ai partagé les bons  
moments et à sa famille.*

*A tous mes amies intimes khadija, fatima, fatiha, farida, hakima.*

*A tous ceux qui M'ont connu de près ou de loin.*

*A tous les étudiants de ma promotion 2016.*

**FATMA**

Sommaire :.....	
Introduction.....	
Chapitre I : Synthèse bibliographique.....	
I.1- Le thym .....	3
I.1. 1.Généralités .....	3
I.1.2. Classification.....	4
I.1.3. Description botanique de la plante.....	4
I.1.4. Localisation et répartition géographique .....	5
Dans le monde .....	5
En Algérie.....	6
I.1.5. Propriétés de thym .....	7
I.1.6. Composition chimique .....	7
I.1.7. Utilisation des feuilles de <i>Thymus vulgaris</i> .....	10
I.2. Les métabolites secondaires des plantes.....	10
I.2.1. Définition et fonction des métabolites secondaires .....	10
I.2.2 Classification des métabolites secondaires .....	11
I.2.2.1. Les composés phénoliques .....	11
I.2.2.2. Les alcaloïdes .....	16
I.2.2.3. Terpénoïde.....	17
I.3. Puceron noir de la fève <i>Aphis fabae</i> .....	20
I.3.1. Généralités .....	20
I.3.2. Classification d' <i>Aphis fabae</i> .....	20
I.3.3. Cycle biologique .....	21
I.3.4. Dégâts du puceron noir de la fève.....	21
I.3.4.1. Hôtes primaires .....	21
I.3.4.2. Hôtes secondaires .....	22
I.3.4.3. Transmission des virus phytopathogènes.....	23
I.4. La lutte biologique.....	23
I.5. La plante hôte (la fève).....	23
I.5.1. Généralités .....	23
I.5.2. Description.....	23
I.5.3. Systématique .....	23
I.6. L'abeille domestique <i>Apis mellifera</i> .....	24
I.6.1.Présentation de l'abeille.....	24

I.6.2. Position systématique <i>d'Apis mellifera</i> .....	24
I.6.3. cycle de vie .....	25
I.6.3.1. L'œuf .....	25
I.6.3.2. La larve .....	25
I.6.3.3. La puppe .....	26
I.6.3.4. L'Imago .....	26
I.6.4. Rôle des abeilles dans les écosystèmes .....	26
Chapitre II : Matériels et Méthodes .....	
II.1. Matériel .....	27
II.1.1. Matériel biologique .....	27
II.1.1.a. Matériel végétal .....	27
II.1.1.b. Matériel animal .....	28
II.1.2. Matériel non biologique .....	28
II.2. Méthodes .....	28
II.2.1. Méthodologie de récolte, séchage, broyage et conservation de la poudre .	29
Végétale .....	29
Récolte .....	29
Séchage .....	29
Broyage et conservation .....	29
II.2.2. Screening phytochimique .....	30
II.2.2.1. Préparation de l'infusé à 20% .....	30
II.2.2.2. Identification des leucocyanes .....	30
II.2.2.3. Identification des anthocyanes .....	31
II.2.2.4. Identification des tannins totaux .....	31
II.2.2.5. Identification des quinones libres .....	31
II.2.2.6. Identification des saponosides .....	31
II.2.2.7. Identification des alcaloïdes .....	31
II.2.2.8. Identification des coumarines .....	31
II.2.2.9. Identification de l'amidon .....	32
II.2.2.10. Identification des flavonoïdes .....	32
II.2.2.11. Identification des mucilages .....	32
II.2.2.12. Identification des glucosides .....	32
II.2.2.13. Identification des irrodoïdes .....	32
II.2.3. Préparation de l'extrait éthanolique brut à la macération .....	32

II.2.3.1.Principe .....	32
II.2.3.2.Mode opératoire .....	32
II.2.3.3.Calcul du rendement .....	34
II.2.4. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> L. vis-à-vis des pucerons.....	35
II.2.4.1. Préparation des solutions tests (solution insecticide).....	35
II.2.4.2. Réalisation des essais toxicologiques .....	35
II.2.5.Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> L. vis-à-vis des abeilles mellifères .....	36
II.2.5.1.Préparation des solutions tests (solution insecticide).....	36
II.2.5.2.Réalisation des essais toxicologiques .....	36
II.2.6. Exploitation des résultats.....	36
Evaluation du taux de mortalité.....	36
Correction de la mortalité .....	37
 Chapitre III : Résultats et discussions	
III.1.Résultats .....	40
III.1.1.Screening phytochimique.....	40
III.1.2. Rendement de l'extrait brut.....	43
III.1.3. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> L. vis-à-vis du puceron noir <i>Aphis fabae</i> .....	44
III.1.3.1.Résultats.....	44
III.1.3.2.Evaluation de la dose létale 50 .....	45
III.1.3.3.Détermination des temps létaux 50 (TL50).....	47
III.1.4. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> L. vis-à-vis de l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i> .....	50
III.1.4.1.Résultats.....	50
III.1.4.2.Evaluation de la dose létale 50 .....	51
III.1.4.3.Détermination des temps létaux 50 (TL50).....	53
III.2.Discussion .....	58
III.2.1. Tests phytochimiques .....	58
III.2.2.Rendement de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> .....	58
III.2.3.Evaluation de la toxicité de l'extrait brut éthanolique du <i>T. vulgaris</i> vis-à-vis des pucerons noirs de la fève .....	58
III.2.4.Evaluation de la toxicité de l'extrait vis-à-vis des abeilles.....	59

Conclusion.....	61
Perspectives.....	62
Références bibliographiques.....	
Annexes.....	
Résumé.	





## Liste des tableaux

Tableau 1 : Localisation des principales espèces de genre <i>Thymus</i> en Algérie.....6 (Mebarki, 2010) .....	6
Tableau 2 : Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse .....8 Du <i>Thymus vulgaris</i> (Kulišić <i>et al</i> , 2006).....8	8
Tableau 3 : Les flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de <i>Thymus</i> <i>Vulgaris</i> L. ....9	9
Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la poudre des feuilles de <i>Thymus vulgaris</i> L.....40	40
Tableau 5: Rendement des poudres des feuilles du thym.....43	43
Tableau 6 : Pourcentage de mortalité cumulée des pucerons noirs en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> .....44	44
Tableau 7 : Pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction du temps .....45 Et différentes doses de l'extrait éthanolique de <i>Thymus vulgaris</i> L. ....45	45
Tableau 8 : Pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction du temps Et différentes doses de l'extrait éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> L.....45	45
Tableau 10: Valeurs des temps létaux 50 (TL50) des populations de pucerons traitées à l'extrait éthanolique brut de <i>T.vulgaris</i> L. ....49	49
Tableau 11 : Analyse statistique de variance ente les pourcentages mortalités.....49 Cumulées des pucerons en fonction des doses et du temps.....49	49
Tableau 12 : Analyse statistique de variance ente les pourcentages de mortalités.....50 Corrigés des pucerons en fonction des doses et du temps .....50	50
Tableau 13 : Pourcentages des mortalités cumulées des abeilles en fonction du temps .....52 et des différentes doses .....52	52
Tableau 14 : Pourcentage de mortalité corrigée des abeilles en fonction de temps et. Des différentes doses .....52	52
Tableau 15: Valeurs des doses létales 50 (DL50) de la population d'abeilles traitées Par l'extrait éthanolique brut de <i>T. vulgaris</i> . ....54	54
Tableau 16 : Valeurs des temps létaux 50 (TL50) des populations des abeilles traitées .....55	55
Tableau 17 : Analyse de variance .....55	55

Tableau 18 : Analyse de variance .....	56
Tableau 19 : Analyse de variance .....	57



# Liste des figures et des tableaux

---

## MListe des figures

<b>Figure 1</b> : Le thym (Originale).....	4
<b>Figure 2</b> : Aspects morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i> L. (Iserin, 2001).....	5
<b>Figure 3</b> : Acide ferulique (Ribereau, 1968). ....	12
<b>Figure 4</b> : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).....	13
<b>Figure 5</b> : Structure des deux types de tanins (Ghestem, 2001).....	15
<b>Figure 6</b> . Cycle biologique d'un puceron noir de la fève (www.inra.fr/opie-insectes/1921agri-pp.htm).....	22
<b>Figure 7</b> : <i>Apis mellifera</i> (Anonyme, 2013).....	24
<b>Figure 8</b> : Cycle de vie d'abeille (Anonyme, 2013).....	26
<b>Figure 9</b> : la plante de pittosporum (originale).....	27
<b>Figure 10</b> : <i>Aphis fabae</i> (gauche) et <i>Apis mellifera</i> (droite) sont originale.....	28
<b>Figure 12</b> : La poudre végétale de <i>Thymus vulgaris</i> .....	30
<b>Figure 13</b> : Etapes de préparation de l'extrait éthanolique brut par macération.....	34
<b>Figure 14</b> : Lots représentant les quatre concentrations (D1, D2, D3, D4) et.....	36
Témoins.....	36
<b>Figure 15</b> : Lots représentant les différentes concentrations et Témoins.....	37
<b>Figure 16</b> : Droites de régressons : $\text{Probit} = f \log(\text{dose})$ des pucerons noirs de la.....	47
Fève traités par l'extrait brut de <i>Thymus vulgaris</i> en fonction du.....	47
Temps d'observation.....	47
<b>Figure 17</b> : Droites de régression $\text{Probit} = f \log(\text{temps})$ des pucerons noirs de la fève traités à l'extrait éthanolique brut de <i>T. vulgaris</i> aux différentes doses testées.....	48
<b>Figure 18</b> : Graphes de l'analyse statistique.....	50
<b>Figure 19</b> : Les graphes de l'analyse statistique.....	51
<b>Figure 20</b> : Droites de régression : $\text{Probit} = f \log(\text{dose})$ des abeilles domestiques traitées par l'extrait brut de <i>T. vulgaris</i> L. en fonction du temps d'observation.....	53
<b>Figure 21</b> : Droites de régression $\text{Probit} = f \log(\text{temps})$ des abeilles traités par l'extrait Éthanolique brut de <i>Thymus vulgaris</i> en fonction des doses.....	54
<b>Figure 22</b> : Les graphes de l'analyse statistique.....	55
<b>Figure 23</b> : Les graphes de l'analyse statistique.....	56

## Liste des figures et des tableaux

---

# Glossaire

---

## Glossaire

**Aromatique** : Riche en métabolite secondaire d'odeur agréable

**Aromathérapie** : Des soins à base d'aromes

**Antiseptique** : Substance destinée à détruire ou à arrêter dans leur développement les Pathogènes

**Thérapeutique** : Partie de la médecine qui enseigne la manière de traiter les maladies

**Phytothérapie** : Soins à base de plantes

**Pharmacologie** : Etude théorique et expérimentale des médicaments et de leur Emploi

**Vivace** : Qui vit plusieurs années

**Lamiacée** : importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 6000 Espèces.

**Antifongique** : contre les champignons

**Antibactérienne** : contre les bactéries.

## Liste des abréviations

---

Liste des abréviations

A : Aphis

H : heur

D : dose

R : répétition

T : témoin

% : pourcentage

mg : milligramme

ml : millilitre

BPO : biologie des populations et des organismes

HPLC : Analyse par chromatographie liquide haute performance.

GLM : (modèle générale linière) logiciel statistique.

P : probabilité

DL50 : dose létale pour 50% des individus

TL50 : temps létal au bout duquel 50% de mortalité sont obtenus

# Introduction générale

---

## Introduction générale

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (Majinda *et al*, 2001). De nos jours la majorité, des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Une des originalités majeures des plantes médicinales réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classique (glucides, protides, lipides, acides nucléique), ils accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différentes que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Jeaun et Annie, 2005).

Dans la plupart des cas, ces activités sont attribuées aux monoterpènes oxygénés. D'autre part, et à titre d'exemple, la conservation des denrées entreposées est généralement assurée par des insecticides de synthèse qui peuvent être le moyen le plus efficace et le moins couteux pour contrôler les insectes cependant l'utilisation abusive des insecticides chimiques a des effets négatives. Des travaux sont effectués dans ce contexte et ont montré une efficacité des extraits des plantes (Guarrera, 1999). En effet, les plantes constituent une source de substances naturelles qui présentent un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et au monde animal.

Le puceron noir de la fève est la principale contrainte à la production de la fève *Vicia. faba*, en plus des dégâts directs, ce puceron excrète du miellat qui entrave certains processus physiologiques de la plante et stimule la croissance de la fumagine (Shannaget, 2007).

Par ailleurs, les abeilles qui sont des insectes utiles, sont les meilleurs agents pollinisateurs des plantes (McGregor, 1976). Leur activité la plus importante, en termes d'avantages pour l'homme, est leur pollinisation de la végétation naturelle mais aussi cultivée (Michener, 2007). La pollinisation est l'un des mécanismes les plus

## Introduction générale

---

importants dans le maintien et la préservation de la biodiversité végétale et, en général, de la vie sur terre.

C'est dans cette optique que ce travail s'effectue. En effet, il vise à effectuer une étude comparative de l'effet insecticide des extraits bruts de la plante aromatique, *Thymus vulgaris* L, *in vitro*, vis-à-vis de deux espèces d'insectes l'une nuisible (puceron noire de la fève) et l'autre utile (l'abeille domestique).

La présente étude s'articule autour de trois chapitres, le premier chapitre est une synthèse bibliographique concernant le thym (*Thymus vulgaris* L.), les métabolites secondaires, les deux insectes (puceron et abeille) et la fève. Le second chapitre est consacré aux méthodes et techniques utilisées pour mener ce travail. Les résultats obtenus ainsi que leur discussion sont présentés dans le troisième chapitre, et on achève ce modeste travail par une conclusion générale.

## Chapitre I – Synthèse bibliographique

### I.1- Le thym

#### I.1.1.Généralités

Le genre *thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées, elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste le thym vulgaire localement connu « zaatar ». En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre thym et thyme respectivement pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* L. (Amiot, 2005)

Le nom *thymus* dérive du mot grec « thymos » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001)

Il existe une variation de la production des composés secondaires chez certaines espèces végétales que l'on appelle polymorphisme chimique. Cette variation peut être quantitative ou qualitative. Un grand nombre d'espèces possèdent des individus dont les composés secondaires varient quantitativement d'un individu à un autre. Par contre, les exemples de variation quantitative, c'est-à-dire l'existence de chémotypes au sens strict dont les individus peuvent porter des molécules de nature chimique différentes les unes des autres, sont moins fréquents. C'est notamment le cas de *Thymus vulgaris* qui exprime six formes de chémotypes différents, chaque chémotype est nommé suivant le composant principal de son huile essentielle à titre d'exemples : thymol (T), carvacrol (C),...etc. (Amiot, 2005) (Fig. 1).



**Figure 1 : Le thym (Originale)**

### **I.1.2. Classification**

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Morales, 2002).

**Règne :** Plantes

**Sous règne :** Plantes vasculaires

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Dialypétales

**Ordre :** Labiales

**Famille :** Lamiacées

**Genre :** *Thymus*

**Espèce :** *Thymus vulgaris* L.

### **I.1.3. Description botanique de la plante**

*Thymus vulgaris* L. est un arbuste aromatique à tiges ramifiées pouvant atteindre 40cm de hauteur, il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncés, et qui sont recouvertes de poils et de glande (appelés trichomes).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composées de monoterpènes. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose. *Thymus vulgaris* est d'ailleurs caractérisé par un polymorphisme floral qui a été moins étudié que son polymorphisme chimique (Bruneton, 1999 ; Morales, 2002) (Fig. 2).



Figure 2 : Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L. (Iserin, 2001)

### I.1.4. Localisation et répartition géographique

- **Dans le monde**

Le thym est distribué dans le vieux continent, sur les côtes du Groenland et dans la région macaronisienne (les canaries, Modère, et les Açores).

C'est une plante très répandue dans le Nord-africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) ainsi que dans les montagnes d'Ethiopie, les montagnes d'Arabie du Sud-Ouest et la péninsule de Sinaï. Passent par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie et en Europe nordique (Jalas, 1971).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

- **En Algérie**

Le genre *Thymus* inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (**kabouche et al.. 2005**). Ces espèces sont réparties du nord Algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (Tab. 1).

**Tableau1** : Localisation des principales espèces de genre *Thymus* en Algérie  
(Mebarki, 2010)

Espèces	Découverte par	Localisation
<i>Thymus capitatus</i>	Iloffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et reuter	Commun dans le tell Endémique Est Tunisie- Algérie
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans le sous-secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne tell constantinois
<i>Thymus guyoni</i>	Noé	Rare dans les sous-secteurs des hauts plateaux Algérois Oranais et constanois
<i>Thymus algériensis</i> = <i>T. vulgaris</i>	Boiss et reuter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et reuter	Endémique dans le secteur nord algérois

### I.1.5. Propriétés de thym

- Assaisonnement des aliments et des boissons
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicide (Bazylko et streleekis, 2007).
- Propriétés antivirales, antifongique, anti-inflammatoire et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanolique et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (Jiminey-Arellans *et al.*, 2006).
- Propriétés anthelminthiques (Al-Bayati, 2008).
- Propriétés antioxydantes (Takeuchi *et al.*, 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008).

En raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus thynnus* durant leur stockage (Selmi et Sadok, 2008).

### I.1.6. Composition chimique

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes de *T. vulgaris* sont très riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographique, climatique, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection). L'hybridation facile de l'espèce mène à une grande variabilité intraspécifique, qui affecte l'homogénéité du rendement d'extrait et sa composition en produit chimique (Balladin et headley, 1999; Amiot, 2005).

La teneur en huile essentielle de la plante varie de 5 à 25 ml/Kg et sa composition fluctue selon le chémotype considéré (Bruneton, 1999); l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été analysée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à une spectrométrie de masse (SM), 30 composés ont été identifiés et caractérisés, les plus abondants sont respectivement : thymol (44,4-58,1%), p-cymène (9,1 – 18,5 %),  $\gamma$ -terpinène (6,9- 18,0%), carvacrol ( 2,4- 4,2%), linalol (4,0-6,2%). La caractéristique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* était sa

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

teneur élevée du thymol (Guillén et Manzanos, 1998 ; Balladin et Headley, 1999 ; Hudaib *et al.* . 2002 ; Bouhdid *et al.*, 2006) .

Le contenu phénolique total, flavonoïdes, catéchine et anthocyanine dans l'infusion aqueuse préparée du *Thymus vulgaris* a été déterminé par des méthodes de spectrophotométries (Kulisic *et al.*, 2006). Le tableau 2, ci-dessous résume les résultats.

**Tableau 2 :** Teneur en polyphénols (en µg EAG/mg d'extrait) dans l'infusion aqueuse Du *Thymus vulgaris* (Kulišic *et al.*, 2006)

Plantes	Phénolestotoux	flavonoïdes	Non-flavonoïdes	Catéchines	Anthocyanines
Thymus Vulgaris	33,3	25,0	8, 3	1,2	6,7

La méthodologie habituelle pour étudier les dérivés flavonoidiques dans les plantes implique les extractions successives employant plus d'un solvant, plusieurs étapes de fractionnement et différentes techniques de chromatographie pour extraire, séparer, isoler et identifier les composés d'intérêt. Le tableau 3 énumère les flavonoides trouvées dans les feuilles *Thymus vulgaris* L, par plusieurs auteurs, en utilisant la méthodologie ci-dessus mentionné.

De nombreuses études ont confirmé que les espèces qui appartiennent à la famille des Lamiaceae sont une bonne source d'acide rosmarinique, l'identification des composés polyphénoliques dans l'infusion aqueuse de *T. vulgaris* par analyse HPLC, a montré une présence dominante d'acide rosmarinique (17,45mg /g=1,7% de la masse sèche de *T. vulgaris*) et un autre composé significatif est l'eriocitrin (1,96mg/g) (Kulisi *et al.*, 2006).

D'autres composants ont été détectés seulement en traces, l'acide caféique (0,02mg/g) et l'acide p-hydroxybenzoïque. La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) (4,4 mg/kg) (Guillén et Manzanos, 1998 ; Kulisic et al, 2006).

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

**Tableau 3** : Les flavonoïdes trouvés par plusieurs auteurs dans les feuilles de *Thymus Vulgaris* L.

Flavonoïde	Références
<b>Cirsilineol</b> (5,4'-dihydroxy-6, 7,3'-trimethoxyflavone)	Adez et al, 1988, Morimitsu et al, 1995
<b>Thymonine</b> (5, 6,4'-trihydroxy-7, 8,3'-trimethoxyflavone)	Morimitsu et al, 1995  Adez et al, 1988,
<b>Eriodictyol</b> (5, 6,4'-tetrahydroxyflavone)	Morimitsu et al, 1995  Adzet et al, 1988
<b>Sideritoflavone</b> (5,3',4'-trihydroxy-6, 7,8-trimethoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998  Adzet et al, 1988
<b>5-Desmethylnobiletine</b> (5-hydroxy-6, 7, 8,3',4'-pentamethoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998  Adzet et al., 1988
- <b>Apigénine</b> (5, 7,4'-trihydroxyflavone)	Kulišić et al, 2006  Adzet et al, 1988
- <b>Lutéoline</b> (5, 7,3',4'-tetrahydroxyflavone)	Kulišić et al, 2006  Guillén et Manzanos, 1998
- <b>Xanthomicrol</b> (5,4'-dihydroxy-6, 7,8-trimethoxyflavone)	Guillén et Manzanos, 1998
- <b>5-Desmethylnobiletine</b> (5-hydroxy-6, 7,3',4'--tetramethoxyflavone)	Morimitsu et al, 1995  Kulišić et al, 2006
<b>Quercétine</b> (3, 5, 7,3',4'-pentahydroxyflavone)	

### **I.1.7. Utilisation des feuilles de *Thymus vulgaris***

*Thymus vulgaris* est une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier, ces applications touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan *et al*, 2006). De plus, son huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Jordàn *et al*, 2006). L'épice *Thymus vulgaris* est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des légumes (Ozcan et chalchat, 2004).

La feuille et la sommité fleurie du thym utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et la bronchite (Bruneton, 1999). Sa feuille est énumérée dans la pharmacopée de fines herbes allemande et britannique a été employée en tant que bronchospasmodique, expectorant et antibactérien. On dit que la tisane des feuilles de thym favorise le repos et le sommeil (kitajima *et al.*, 2004).

En usage local, elles sont traditionnellement utilisées en cas de Nez bouché, de rhume, pour le traitement des petites plaies après lavage abondant, pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, en bain de bouche pour l'hygiène buccale (Poletti, 1988 ; Brunton, 1999) ainsi comme additif de bain préparé par décoction qui stimule l'écoulement de sang vers la surface du corps humain, soulageant de ce fait la dépression nerveuse (Özcan et Chalchat, 2004).

### **I.2. Les métabolites secondaires des plantes**

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser des diverses substances pour se défendre. Ces substances prennent la nomenclature des métabolites secondaires (Kansole, 2009).

#### **I.2.1. Définition et fonction des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (glucides, lipides et protéines) qui alimentent les grandes voies

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

du métabolisme basal (Cuendet, 1999 ; Gravot, 2008). Les métabolites secondaires, issus de métabolites primaires interviennent dans la structure des plantes mais également, elles exercent une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement (Gravot, 2008; Kansole, 2009). Ils participent ainsi, d'une manière très efficace, dans la tolérance des végétaux à des stress variés, par action anti-herbivore, inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes, défense contre la sécheresse et lumière UV. Mais elles peuvent être antinutritives. Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole. D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on retrouve chez les plantes médicinales (Gravot, 2008; Thomas, 2009). Ces molécules furent sélectionnées au cours de l'évolution pour l'interaction qu'elles ont avec un récepteur d'un autre organisme. Elles représentent donc une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (Thomas, 2009).

### **I.2.2 Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, dont plus de 200.000 molécules ont été identifiées. Classés selon leur appartenance chimique en composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes (Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006).

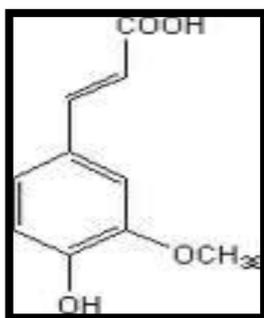
#### **I.2.2.1. Les composés phénoliques**

Les polyphénols constituent un groupes largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante, ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de shikimate et d'acétate (Hopkins, 2003 ; Lugasi *et al.*, 2003 ; Lebham, 2005). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyles (Macheix *et al.*, 2005), libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 1993). La structure de ces composés varie, des molécules simples (acides phénoliques simples) aux molécules hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix *et al.*, 2005). Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...), certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004).

### I.2.2.1.1. Classification des composés phénoliques

#### I.2.2.1.1.A. Les acides phénoliques

Les composés phénoliques sont dérivés de deux sous-groupes distingués : Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique, et les acides hydroxybenzoïques, mais les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales, et présents chez toutes les céréales (Barboni, 2006). Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prébiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques (Bruneton, 1999 ; Cowan, 1999 ; Barboni, 2006). Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique (Fig. 3) qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer oesophagien chez les rats (Ribereau, 1968).



**Figure 3 : Acide férulique** (Ribereau, 1968).

#### I.2.2.1.1.B. Les flavonoïdes

##### I.2.2.1.1.B.1. Définition

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) représente une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen, 2002 ; Medić *et al.*, 2004 ; Fiorucci, 2008).

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (Ribereau, 1968 ; Nijveldt *et al.*, 2001 ; Erlund, 2004). Où ils

peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes (Bruneton, 1999). Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Delporte *et al.*, 1999).

### I.2.2.1.1.B.2 structure des flavonoïdes

Flavonoïde, est un terme générique pour des composés basés sur un squelette à 15 atomes de carbone qui fait de deux cycles phényles C<sub>6</sub>, les cycles A et B, connectés par un pont à trois carbones (structure en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Ce dernier est situé entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former le cycle C (cycle centrale). Les atomes de carbone dans les cycles C et A sont numérotés de 2 à 8, et dans le cycle B de 2' à 6' (Bruneton, 1999). La Distinction des sous-classes se fait sur la conformation de la structure centrale (cycle C) (Fig. 4).

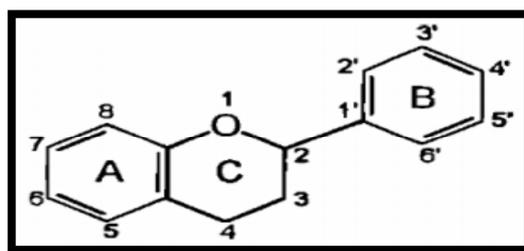


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003)

### I.2.2.1.1.C. Les coumarine

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : *Légumineuse*, *Rutacées*, *Apiécées* et *Thymeleacées*. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Deina *et al.*, 2003 ; Booth *et al.*, 2004).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale, elles sont principalement présentes sous forme glycosylée (Hofmann, 2003). Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules.

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans la règne animale (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (Ford *et al*, 2001 ; Hofmann, 2003 ; Casley *et al.*, 1993) .

### I.2.2.1.1.D. Les tanins

#### I.2.2.1.1.D.1. Définition

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits des plantes pour tanner les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir (Hopkins, 2003). Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...), ce sont des substances de saveur astringente ayant la propriété de tanner la peau et de se combiner aux protéines animales par des liaisons hydrogènes (Pousset, 1989).

#### I.2.2.1.1.D.2. Classification et structure

La structure des tanins est complexe, formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation. On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins, basés sur des différences structurales: les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables ou tanins condensés (Fig. 5) (Ghestem, 2001).

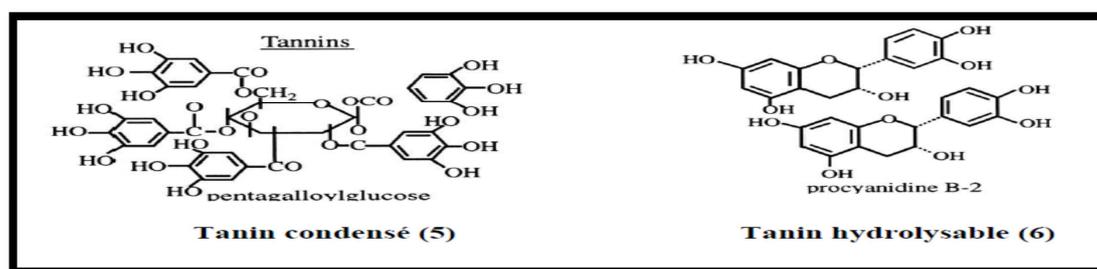


Figure 5 : Structure des deux types de tanins (Ghestem, 2001)

#### I.2.2.1.1.E. Les quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones,

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

Comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (Kansole, 2009). Les quinones sont capables de se complexer de façon irréversibles aux protéines des membranes bactériennes ce qu'ils donnent un potentiel antimicrobien élevé (Stern *et al.*, 1996).

### **I.2.2.1.1.F. Les lignanes**

#### **I.2.2.1.1.F.1. Définition**

Le terme lignane est présenté par Haworth (1936). Les lignanes sont des dimères des unités de phenylpropane (C6-C4) (Benarous, 2009). Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. La distribution botanique des lignanes est large. Plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles. Chez les gymnospermes, ils sont surtout rencontrés dans les bois alors que chez les Angiospermes, ils ont été identifiés dans tous les tissus, ils ont été découverts dans toutes les parties des plantes : les racines, les feuilles, les fruits et les graines (Midoun, 2011).

#### **I.2.2.1.1.F.2. Structure**

Les lignanes sont répartis en huit groupes structuraux, classés selon le mode d'incorporation du (ou des) atome (s) d'oxygène dans le squelette carboné et selon le type de cyclisation (Umezawa, 2003).

### **I.2.2.1.1.G. Les stilbènes**

#### **I.2.2.1.1.G.1. Définition**

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, dont la structure est C6-C2-C6, comme les flavonoïdes, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la résonance des électrons sur la totalité de la molécule (Crozier *et al.*, 2006).

Les stilbènes sont des phyto-alexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, le soja et les arachides (Crozier *et al.*, 2006).

### **I.2.2.2. Les alcaloïdes**

#### **I.2.2.2.a. Définition**

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

Un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (Badiaga, 2011).

Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles (Krief, 2003). Ce sont des composés relativement stables qui sont stockés dans les plantes en tant que produits de différentes voies biosynthétiques (Omulokoliet *al*, 1997 ; Wilhem, 1998 ; Juddet *al*, 2002 ; Mauro, 2006 ; Kansole, 2009)

### **I.2.2.2.b. Structure**

La plupart des alcaloïdes sont dérivés des acides aminés tels que le tryptophane, L'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés (Cyril, 2001)

### **I.2.2.2.c. Classifications**

Les alcaloïdes sont divisés en trois classes : Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (Badiaga, 2011). Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011). Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (Cyril, 2001). Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (Badiaga, 2011).

### **I.2.2.3. Terpénoïde**

#### **I.2.2.3.a. Définition**

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces

composés sont majoritairement d'origine végétale (Malecky, 2005). Synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux (Benaïssa, 2011). L'exploitation de ces composés s'effectuait sous forme d'huiles extraites de plantes (huiles essentielles) par le moyen de la distillation (Harbone, 1998 ; Bruneton, 1999 ; Klaas, 2002 ; Malecky, 2005).

### **I.2.2.3.b. Structure**

Les terpènes sont des composés hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Leur formule brute est  $(C_5H_x)_n$  dont le  $x$  est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et  $n$  peut prendre des valeurs (de 1 à 8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base des terpénoïdes est l'isoprène de formule  $C_5H_8$  (Benaïssa, 2011). Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2005 ; Benaïssa, 2011).

### **I.2.2.3.c. Classification**

La classification des terpenoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène en donnant des hémiterpènes ( $C_5$ ), monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ), sesterpènes ( $C_{25}$ ), triterpènes ( $C_{30}$ ), tetraterpènes ( $C_{40}$ ) et polyterpènes (Mebarki, 2010) (Loomis et Croteau, 1980).

#### **I.2.2.3.c.1. Hémiterpènes**

Dans la nature, il existe peu de composés naturels ayant une formule en  $C_5$  ramifiée; parmi certains composés naturels trouvés chez les plantes qui peuvent être considérés comme hémiterpène, seul l'isoprène qui a toutes les caractéristiques biogénétiques des terpènes (Loomis et Croteau, 1980).

#### **I.2.2.3.c.2. Monoterpènes**

Les monoterpènes comportent dix atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités d'isoprène, selon le mode de couplage «tête-queue». Dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90% des huiles essentielles sont des monoterpènes) (Ayad, 2008) Ce sont des molécules légères, très peu fonctionnalisées et très odorantes. La plupart ont des activités biologiques reconnues (Klaas, 2002 ; Belbache, 2003). Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurelles : les monoterpènes linéaires

(acyclique), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques) (Allen *et al*, 1977).

### **I.2.2.3.c.3. Sesquiterpène**

Les sesquiterpènes forment une série de composés qui renferment 15 atomes de carbone. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme le  $\beta$ -Cadinène (Belbache, 2003) ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme : les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature. Les sesquiterpènes et les monoterpènes sont souvent en mélange dans les huiles essentielles des Plantes (Ayad, 2008). Ils peuvent être acycliques, monocyclique, bicycliques, tricyclique ou polycyclique (Belbache, 2003 ; Malecky, 2005). Les terpènes de type sesquiterpènes et lactones sesquiterpéniques sont très connus pour leurs activités biologiques, ces dernières étaient appelées « principes amers ». Elles ne sont pas volatiles et leur structure casse à des températures élevées. On dénombre plus de 3000 structures différentes, et on les trouve principalement chez les Asteraceae au niveau des poils sécréteurs pluricellulaires des feuilles, bractées et inflorescences (Bruneton, 1999).

### **I.2.2.3.c.4. Diterpènes**

Les diterpènes sont des substances avec 20 atomes de carbone (C<sub>20</sub>) élaborées à partir de 4 unités d'isoprène ; ils se forment à partir de leur précurseur, le géranylgeranyl-pyrophosphate (GGPP) (Malecky, 2005) Sont très répandus chez les végétaux supérieurs, ils sont aussi présents chez certains insectes et chez divers organismes marins. On peut les trouver encore dans les résines, les exsudats, les gommes naturelles et les gibbérellines (Ayad, 2008).

Ils peuvent être acycliques comme le phytol ; dont il est le représentant le plus connu de la chlorophylle et des vitamines K et E, cependant après divers réarrangements, ils peuvent être monocycliques comme la vitamine A, bicycliques comme le sclaréol ou tricycliques comme l'acide abiétique. (Loomiset Croteau, 1980 ; Belbache, 2003 ; Malecky, 2005).

### **I.2.2.3.c.5. Triterpènes**

Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone. Ils ont comme précurseur le squalène. Ex : Le lanostérol qui est ensuite transformé en cholestérol, c'est de plus un des constituants de la graisse de la laine de mouton (Klaas, 2002 ; Belbache, 2003). Il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare (Malecky, 2005). La plupart de triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside (les saponines) ou ester. Les triterpènes libres sont des composants principaux des résines ou du latex des végétaux, la vitamine D2 est un produit dérivé de triterpène (Loomis et Croteau, 1980)

### **I.2.2.3.c.6. Tétraterpènes**

Les Tétraterpènes contiennent une longue chaîne de 40 atomes de carbones, à doubles liaisons conjuguées de configuration « trans » dont les extrémités sont des chaînes ouvertes ou des cycles (Ayad, 2008). Les tétraterpènes les mieux connus sont les caroténoïdes. Ces derniers représentent un large groupe de pigments naturels de couleurs jaune, orange et rouge. Ils sont très répandus dans les plantes, les algues, et différents microorganismes. Actuellement environ 750 caroténoïdes ont été identifiés dans la nature (Ayad, 2008). Les molécules de caroténoïdes les plus réputées sont :

A. Le  $\beta$ -Carotène cyclique d'où sa couleur qu'il donne aux carottes, Il joue un rôle essentiel dans la croissance et la vision, son oxydation provoque la formation de deux molécules d'un aldéhyde et le Rétinal et sa réduction donne la vitamine A

B. Le lycopène qui est entièrement acyclique, que l'on trouve dans la tomate mure (0,02g/kg) (Belbache, 2003). Les caroténoïdes sont subdivisés en deux groupes : Les hydrocarbures (carotènes), et leurs dérivés oxygénés (les xanthophylles) (Ayad, 2008).

### **I.2.2.3.c.7. Polyterpènes**

Les polyterpènes ou polyisoprènes se composent de plus de 8 unités d'isoprène. Ces terpènes se trouvent souvent sous deux formes isomériques cis- et trans, Le cis-polyisoprène se trouve dans le caoutchouc indien, alors que le polyisoprène-trans est la partie principale de gutta-percha. Les prenylchoinones sont des polyterpènes comptant jusqu'à 10 unités d'isoprène, parmi eux, on rencontre les vitamines K1 et K2 et la vitamine E (Loomis et Croteau, .1980).

## **I.3. Puceron noir de la fève *Aphis fabae***

### **I.3.1. Généralités**

*Aphis fabae* est holocyclique dioecique. Cette espèce alterne donc entre son hôte primaire, en général le fusain d'Europe (*Evonymus europaeus*), et son hôte secondaire, des plantes herbacées appartenant à de très nombreuses familles

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

botaniques. Dès mars, les œufs d'hiver éclosent sur le fusain. Plusieurs générations parthénogénétiques se développent alors sur l'arabe. Les premiers ailés sont observés en avril. Leur proportion augmente ensuite rapidement au sein des populations. Ces ailés vont quitter les fusains. Ils seront à l'origine de nouvelles colonies en manchon dense, que l'on pourra observer au cours de la belle saison sur les plantes herbacées sauvages et cultivées. Les ailés impliqués dans la reproduction sexuée apparaissent à l'automne. Ils assurent le retour vers les hôtes primaire, le fusain. Les fécondations et la ponte ont lieu dans le courant d'octobre. La reproduction sexuée n'est pas toujours obligatoire chez le puceron noir de la fève. Dans la région à climat doux, des populations peuvent en effet se maintenir tout l'hiver sur des hôtes secondaires herbacés en continuant à se multiplier par parthénogenèse. Les pullulations du puceron noir de la fève sont spectaculaires, en particulier sur féverole et betterave. Elles dépendent des conditions climatiques et peuvent être régulées par la présence d'ennemis naturels (insectes et champignons entomopathogènes).

*Aphis fabae* appartient en fait à un complexe d'espèce qu'il est extrêmement difficile, voire impossible de distinguer. On parle parfois d'Aphis groupe *fabea*. Ce groupe d'espèce est polyphagie. On lui connaît plus de 200 plantes hôtes. Il est également très commun dans le monde et colonise de nombreuses plantes cultivées. En France, c'est la seconde espèce après *Myzus persicae* qui entraîne des dégâts importants. *Aphis fabae* se développe sur plusieurs cultures (betterave,...etc) (Évelyne turpeau-Ait Ighil *et al*, 2011).

### I.3.2. Classification d'*Aphis fabae*

Selon Remaudière *et al*, (1997), *A. fabae* se classe comme suit :

**Règne :** Animal

**Embranchement :** Arthropodes

**Classe :** Insectes

**Ordre :** Homoptères

**Super /famille :** Aphidoidea

**Famille :** Aphididae

**Genre :** *Aphis*

**Espèce :** *Aphis fabae*

### **I.3.3. Cycle biologique**

*Aphis fabae* est holocyclique dioécique. Cette espèce alterne son hôte primaire, et ses hôtes secondaires. Le cycle biologique des pucerons est caractérisé par l'alternance d'une génération sexuée et d'une ou plusieurs générations parthénogénétiques (asexuées) (Christelle, 2007). Il existe différents types de cycles de vie du puceron selon les espèces. Certaines espèces accomplissent la totalité de leur cycle évolutif sur des plantes de la même espèce ou d'espèces très voisines ; elles sont dites monoécique. Par contre d'autres espèces nécessitent pour l'accomplissent de leur cycle complet deux plantes hôtes non apparentées botaniquement. Ces espèces sont dites hétéroécique (ou dioécique).

Dans les régions tempérées, les pucerons présentent un cycle annuel complet (holocycle) à deux hôtes (dioécique). Dans les conditions défavorables de l'hiver, la plupart des pucerons hivernent sous forme d'œufs sur les plantes vivaces ou dans les débris végétaux. Ils peuvent résister à des températures plus basses de l'ordre de -10°C à 15°C. Certains hivernent sous forme de femelles adultes (Eaton, 2009). Plusieurs générations vont se succéder dans lesquelles apparaîtront des ailes qui iront contaminer les différents hôtes secondaires. Par parthénogénèse, les fondatrices engendrent un certain nombre de générations de femelles appelées virginogènes. Généralement, le mâle est ailé et la femelle est aptère. Cette femelle, est la seule de toute cette succession de générations et de formes, qui pondent un œuf, l'œuf d'hiver. Ces œufs éclosent au printemps suivant et le cycle recommence (Dewey, 2004 ; Klass, 2009) (Fig. 6).

### **I.3.4. Dégâts du puceron noir de la fève**

#### **I.3.4.1. Hôtes primaires**

Les piqûres alimentaires sont irritatives et toxiques pour la plante, induisant l'apparition de galles qui se traduisent par la déformation des feuilles ou des fruits et donc une perte de rendement (Christelle, 2007).

Les attaques printanières provoquent un fort enroulement des feuilles, des pousses nouvelles, dégâts qui restent visibles. Cependant la présence de milliers d'individus sur une même plante peut causer des dégâts importants. La croissance de la plante s'en trouve altérée et les fleurs avortent sous l'effet de la salive. Parmi les hôtes primaires on trouve le fusain, la violette et le seringat (Agraphid, 1999).

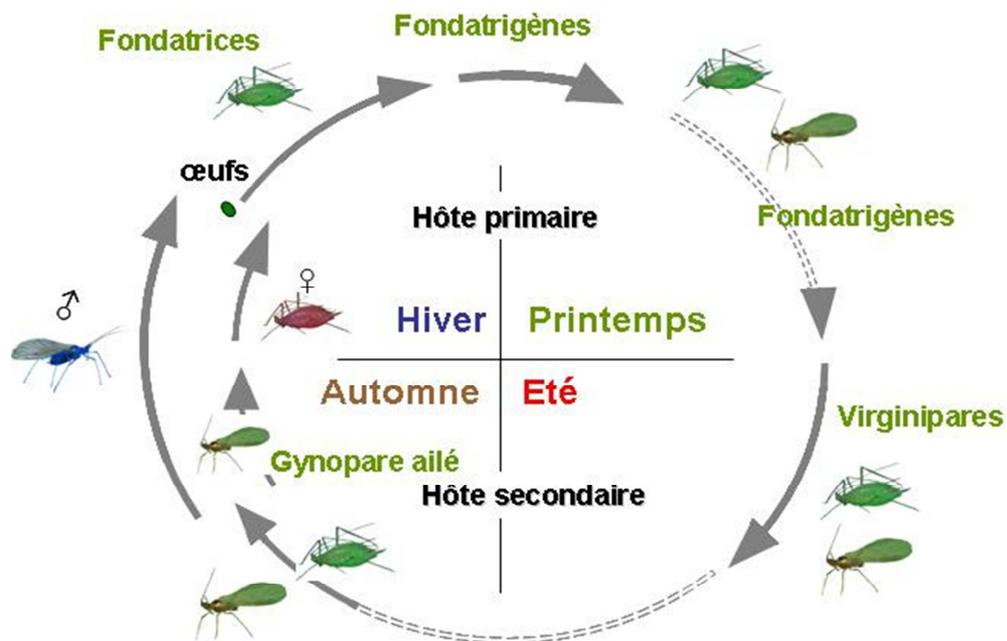


Figure 6. Cycle biologique d'un puceron noir de la fève ([www.inra.fr/opie-insectes/1921agri-pp.htm](http://www.inra.fr/opie-insectes/1921agri-pp.htm)).

### I.3.4.2. Hôtes secondaires

L'enroulement des feuilles est généralement beaucoup moins grave que la colonisation des bourgeons et des tiges florales, qui affectent tout à la fois la qualité des plantes, leur aspect et leur floraison (Alford *et al*, 2013). Parmi les hôtes secondaires on trouve : les Fabacées, les Chénopodiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Solanacées et les diverses culture florales et ornementales (Alford *et al*, 1994).

### I.3.4.3. Transmission des virus phytopathogènes

En se déplaçant d'une plante à une autre, les pucerons créent des contacts indirects entre les intervenir une espèce de puceron, un virus et une plante.

### I.4. La lutte biologique :

Les métabolites secondaires participent à la vie, de relation de la plante, ils ont des rôles très variés .Ils peuvent ne se rencontrer que dans des tissus spécifiques, ou des stades particuliers du développement. Cependant, ils interviennent dans la défense contre les prédateur, et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits. Plus de 85000

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

métabolites secondaires sont déjà connus, ils sont classés en trois grands groupes en fonction de leur composition chimique ; les plus grands sont les composés phénoliques, les terpenoïdes et les alcaloïdes (William *et al.*, 2003).

### I.5. La plante hôte (la fève)

#### I.5.1. Généralités

D'après Gepts *et al.* (2005), la famille des légumineuses est subdivisée en trois sous-familles : Caesalpinieae, Mimosoideae et papilionoideae ou Faboideae, cette dernière inclue la légumineuse à graines dont *Vicia faba L.*

La fève est une culture vivrière très appréciée par les agricultures car elle constitue une source importante de protéines aussi bien pour l'alimentation humaine qu'animale et permet une économie de la fertilisation azotée (Dridi *et al.*, 2011).

#### I.5.2. Description

La fève est une plante diploïde ( $2n=12$  chromosome) et partiellement allogame (Wang *et al.* 2012). Elle est formée d'un appareil végétatif et d'un appareil reproducteur. L'appareil végétatif comprend : les racines, la tige et les feuilles quant à son appareil reproducteur, il est formé par les fleurs qui sont à l'origine des fruits des fruits et des graines.

#### I.5.3. Systématique

Selon Reta Sanchez *et al.* (2008), la fève est classée botaniquement comme suit :

**Règne :** plantae

**Division :** Magnoliophyta

**Classe :** Magnoliopsida

**Ordre :** fabales

**Familles :** fabaceae

**Sous famille :** Faboideae

**Tribu :** viciaeae

**Genre :** *Vicia*

**Espèce :** *Vicia faba L.*

### I.6. L'abeille domestique *Apis mellifera*

#### I.6.1. Présentation de l'abeille

L'abeille est un insecte social appartenant à l'ordre des hyménoptères. Elle produit du miel, du pollen de la gelée royale, de la propolis, de la cire et enfin du

venin *Apis mellifera* a évolué pour devenir un des pollinisateurs les plus efficaces qui soient ce sont « les travailleurs de ferme itinérants les mieux organisés et plus enthousiastes que la planète n'aurait jamais portés » (Jacobsen, 2009).



**Figure 7:** *Apis mellifera* (Anonyme, 2013)

### **I.6.2. Position systématique d'*Apis mellifera***

Les abeilles mellifères sont des insectes sociaux vivant en colonies permanentes et se reproduisant par essaimage. Ils appartiennent à l'ordre des Hyménoptères. Chaque colonie renferme une reine unique (Ruther, 1988 cité par Donou, 2007).

#### **Classification systématique d'*Apis mellifera***

**Règne :** Animalia

**Embranchement :** Arthropoda

**Classe :** hymenoptera

**Ordre:** Hyménoptères

**Sous-ordre:** Apocrites

**Infra ordre:** Aculéates

**Super famille:** Apoidea

**Famille:** Apidae supérieurs

**Sous famille:** Apinae

**Tribu:** Apini

**Genre:** *Apis*

**Espèce:** *Apis mellifera*

### **I.6.3. cycle de vie**

Le cycle de vie de l'abeille traverse 4 stades principaux :

### **I.6.3.1. L'œuf**

Si la reine pond un œuf fécondé, cela donne naissance à une ouvrière ou une reine. Par contre, un œuf non fécondé donnera naissance à un faux-bourdon. L'œuf est blanc, cylindrique, allongé et légèrement incurvé. Au moment de la ponte, la reine fixe l'œuf par une extrémité au fond de la cellule. L'œuf semble être debout dans l'alvéole. Puis pendant 3 jours (en moyenne), l'œuf se développe et s'incline pour finir par se coucher au fond de l'alvéole. Au bout de 3 jours, l'œuf éclot par dissolution de sa membrane. Il devient alors une larve. Un œuf mesure entre 1,3 et 1,8mm de long, environ 0,5mm de large et pèse entre 0,12 et 0,22mg. Les temps de développement, la taille et le poids sont fonction de la race, de la lignée et même des conditions climatiques (Anonyme, 2013).

### **I.6.3.2. La larve**

La larve a la forme d'un petit ver, constitué presque exclusivement d'un tube digestif. La larve passe presque tout son temps à manger la nourriture déposée dans l'alvéole par les abeilles nourrices. Elle est même capable de se retourner si la nourriture n'est pas directement à côté de sa bouche. Au 9<sup>e</sup> jour, l'alvéole est operculée par un petit bouchon de cire. Les derniers jours du stade larvaire sont consacrés à la construction d'un cocon. La durée du stade larvaire varie selon la caste : reine, ouvrière ou faux-bourdon (Anonyme, 2013)

### **I.6.3.3. La puppe**

Le stade pupal est le dernier stade avec celui de l'adulte formé ou imago. A ce stade, la tête, les yeux, les antennes, les pièces buccales, le thorax, les pattes et l'abdomen ont les caractéristiques de celles de l'adulte. La cuticule devient de plus en plus foncée ; sa couleur est utilisée pour déterminer l'âge d'une puppe. A l'intérieur de la puppe, les muscles et les organes se transforment. Puis une dernière mue intervient. Il faudra quelques heures pour que la nouvelle cuticule sèche. Ensuite l'imago perce l'opercule de cire avec ses mandibules. Après sa sortie de l'alvéole, l'adulte déploie ses ailes et ses antennes, laisse sécher ses poils et puis commence ses activités (Anonyme, 2013).

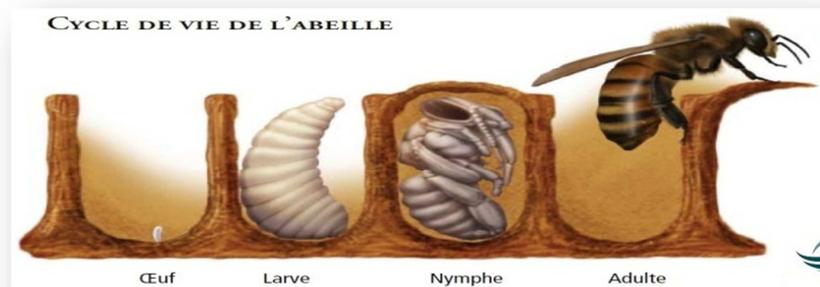
### **I.6.3.4. L'Imago**

A peine née, l'abeille est encre molle et il faudra de 12 à 24 heures pour que la cuticule extérieure ne sèche. Tant que l'exosquelette autour des glandes vulnérantes

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

---

n'est pas durci, la jeune abeille ne peut piquer. Dans les 8 à 10 jours suivant la naissance, le développement interne (notamment des glandes) se poursuit. Les reines et les faux-bourçons poursuivent quant à eux le développement de leurs organes reproducteurs. A l'émergence, les poids moyens sont de : 81 à 151 mg pour l'ouvrière, 196 à 225mg pour le faux-bourdon, 178 à 292 mg pour la reine (Anonyme, 2013)



**Figure 8: Cycle de vie d'abeille (Anonyme, 2013)**

### **I.6.4. Rôle des abeilles dans les écosystèmes**

« Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait plus que quatre années à vivre ». Cette prédiction bien connue et attribuée à Albert Einstein (bien qu'aucune preuve ne confirme cette paternité) montre pourtant par sa véracité à quel point l'abeille est primordiale aux écosystèmes du monde entier. En effet, l'abeille joue un rôle essentiel, même s'il est peu reconnu, dans la majorité des écosystèmes terrestres recouverts d'une végétation durant au moins 3 à 4 mois de l'année. Ainsi que l'on se situe dans les forêts tropicales, les terres boisées des savanes, les forêts tempérées ou bien encore la mangrove, la production de graines, noix, baies et autres fruits dépend très fortement des insectes pollinisateurs dont les abeilles sont les chefs de file, assurant ainsi la survie de nombreuses espèces de plantes, et par conséquent d'animaux (Le Conte et Barbançon, 2006).

## Chapitre II - Matériel et méthodes

Le présent travail consiste en une étude phytochimique de l'extrait éthanolique brut des feuilles de *Thymus vulgaris* ainsi que l'évaluation de son activité insecticide *in vitro*. Ce travail est réalisé conjointement au laboratoire de Biologie des Populations et des Organismes (BPO) de la Faculté des sciences situé M'Hamed Bougara de Boumerdès et l'autre partie est effectuée au niveau de la Faculté de Biotechnologie Saad Dahlab à Blida. Le stage s'est déroulé du mois de avril jusqu'au mois du juin 2016.

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Matériel biologique

##### II.1.1.a. Matériel végétal

La plante choisie pour cette étude est thym *Thymus vulgaris*, elle a été récoltée au mois de mars 2016 dans la région de Bouira. La partie prise en considération pour réaliser cette étude est la partie aérienne (les feuilles).

Les feuilles de la plante Pittosporum à défaut de la fève sont utilisées comme source d'alimentation des pucerons *Aphis fabae* pour tester l'évaluation de l'activité insecticide



**Figure 9:** la plante de pittosporum (originale)

##### II.1.1.b. Matériel animal

Deux espèces d'insectes ont été choisies comme modèle d'étude de l'activité insecticide, il s'agit du puceron *Aphis fabae* pris à partir des pousses de *Pittosporum* à défaut de la culture de fève en fin du cycle de développement de celle-ci, au mois de mai dans la faculté des sciences (UMBB). Le deuxième insecte concerne l'abeille domestique *Apis mellifera*



**Figure 10:** *Aphis fabae* (gauche) et *Apis mellifera* (droite) sont originale la date :

### II.1.2. Matériel non biologique

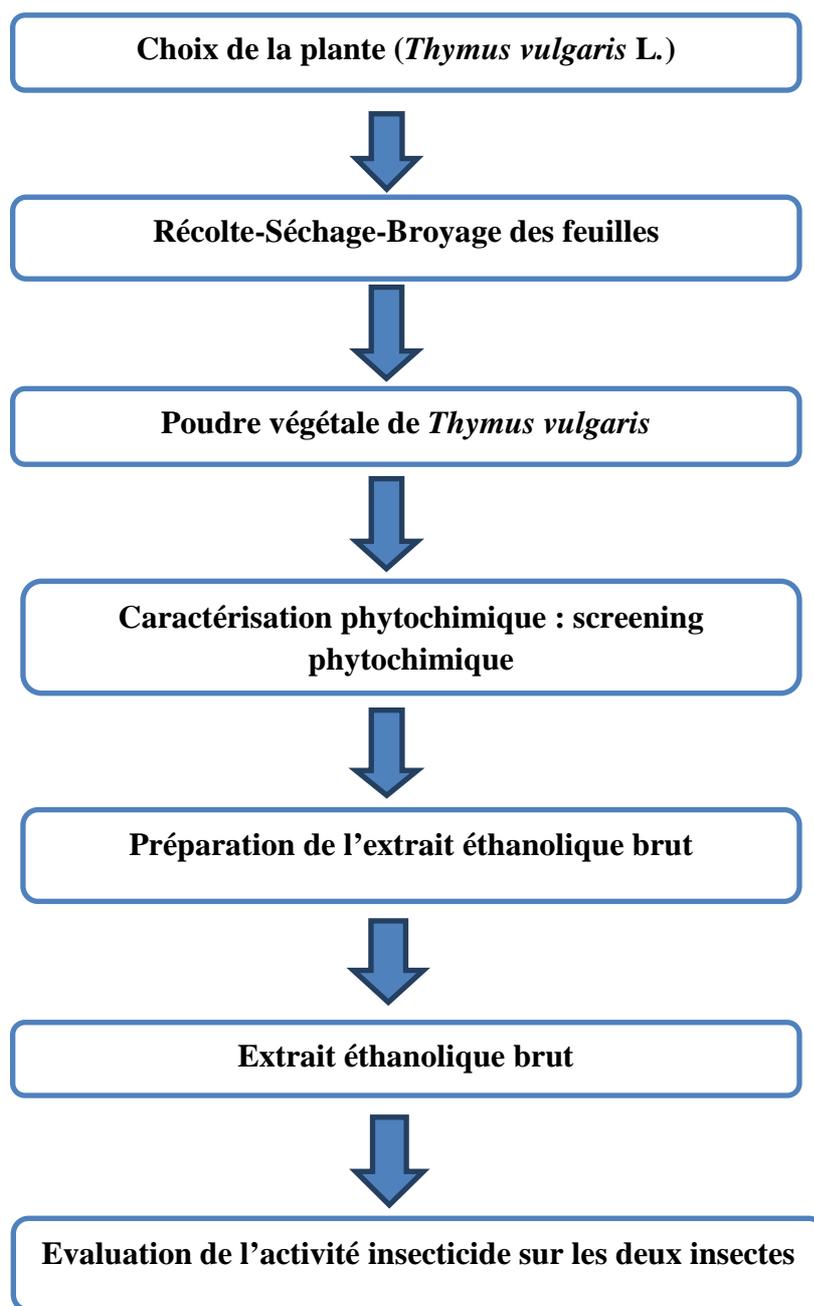
La réalisation des expériences de notre étude a fait appel à un matériel classique composé d'un ensemble d'appareils, de réactifs, de produits chimiques et de verreries (Annexe1).

### II.2. Méthodes

L'étude est essentiellement axée sur :

- Préparation de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L.
- Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut sur les deux insectes.

L'ensemble des étapes de ce travail sont illustrées dans le diagramme ci-dessous :



**Figure 11:** Schéma général des différentes étapes du travail

### II.2.1.Méthodologique de récolte, séchage, broyage et conservation de la poudre

#### Végétale

##### ➤ Récolte

La plante a été récoltée pendant le printemps de l'année 2016 dans la région de Hisār située au niveau de la wilaya de Bouira.

##### ➤ Séchage

La partie aérienne de la plante est séchée directement après la récolte sur papier absorbant, sec et propre à l'air libre à l'abri de la lumière pendant une période s'étalant sur deux semaines.

➤ **Broyage et conservation**

La partie aérienne séchée est réduite en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. Cette opération permet de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaire et de libérer les organites et les molécules contenues dans la cellule ce qui permet d'augmenter leur surface de contacté avec les différents solvants utilisés et par conséquence améliorer le rendement d'extraction.

La poudre résultante est conservée à l'abri de l'air, de l'humidité et de la lumière dans des flacons en verre hermétiquement fermés (Fig. 12).



**Figure 12:** La poudre végétale de *Thymus vulgaris*

### II.2.2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques réalisées sur la poudre des feuilles de *Thymus vulgaris* L. ont pour objectif de rechercher les métabolites secondaires existants. Les méthodes de caractérisations utilisées dérivent de celles décrites par Tona *et al.*, (1998) et Longaga *et al.*, (2000).

#### II.2.2.1. Préparation de l'infusé à 20%

La préparation de l'infusé à 20% est fait par l'additionnement de 20g de poudre végétale à 100 ml d'eau distillée bien chauffée. Après 15 mn, le mélange est filtré par un papier filtre et le filtrant est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

#### **II.2.2.2. Identification des leucocyanes**

On rajoute 20 ml d'un mélange de propanol / (1/1) à 2 g de poudre végétale. Le mélange final est porté en bain marie bouillant pendant quelques minutes. Une coloration rouge se développe en présence des leucocyanes.

#### **II.2.2.3. Identification des anthocyanes**

Pour ce test, on rajoute quelques gouttes d'HCl (acide chlorhydrique) à 5 ml d'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

#### **II.2.2.4. Identification des tannins totaux**

A 5 ml d'infusé, on rajoute quelques gouttes de la solution de FeCl à 5%. La réaction donne une coloration bleu-noire en présence des tannins totaux.

##### **II.2.2.4.1. Identification des tannins catéchiqes**

15 ml d'infusé sont additionnés à 7 ml de réactif de la Stiansy (10 ml formol 40% 5ml HCl concentré). La réaction donne une coloration rouge en présence des tannins catéchiqes.

##### **II.2.2.4.2. Identification des tannins galliques**

5ml de l'infusé rajouter 2g de sodium et quelques gouttes de FeCl. La réaction donne une coloration bleu-foncée en présence des tannins galliques.

#### **II.2.2.5. Identification des quinones libres**

Ce test consiste à humecter 2g de poudre végétale par 2ml d'acide chlorhydrique 1N, l'ensemble est mis en contact avec 20ml de chloroforme pendant 3 heures. Le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque ½. La présence des quinones libres est indiquée par la formation d'une coloration rouge.

#### **II.2.2.6. Identification des saponosides**

A 2ml d'infusé, rajouter quelques gouttes d'acétate de plomb. La formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

#### **II.2.2.7. Identification des alcaloïdes**

Ce test consiste à faire macérer 5 g de poudre végétale humectés avec l'ammoniaque  $\frac{1}{2}$  pendant 24 heures dans 50ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par l'HCl 2N. Des réactions de précipitation sont effectuées sur la solution d'HCl. En présence d'alcaloïdes, le réactif de dragendorff donne un précipité rouge.

#### **II.2.2.8. Identification des coumarines**

Pour ce test, il faut faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15mn puis filtrer. A 5ml du filtrat rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

#### **II.2.2.9. Identification de l'amidon**

A 2g de poudre végétale ajouter quelques gouttes d'iode  $I_2$ . La formation d'une coloration bleu-violette indique la présence d'amidon.

#### **II.2.2.10. Identification des flavonoïdes**

Pour ce test, il faut additionner à 5 ml d'infusé 5 ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction donne une coloration orange en présence des flavonoides.

#### **II.2.2.11. Identification des mucilages**

Introduire 1ml d'infusé dans un bécher et ajouter 5 ml d'éther absolu. Laisser le mélange incuber pendant 10 mn. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages.

#### **II.2.2.12. Identification des glucosides**

A 2g de poudre végétale rajouter quelques gouttes de  $H_2SO_4$ . La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

### II.2.2.13. Identification des irrodoïdes

La présence des irrodoïdes se manifeste par l'apparition d'une coloration bleue, après avoir chauffé un mélange de quelques gouttes d'HCl et 2 ml d'infusé sur une plaque chauffante.

### II.2.3. Préparation de l'extrait éthanolique brut à la macération

#### II.2.3.1. Principe

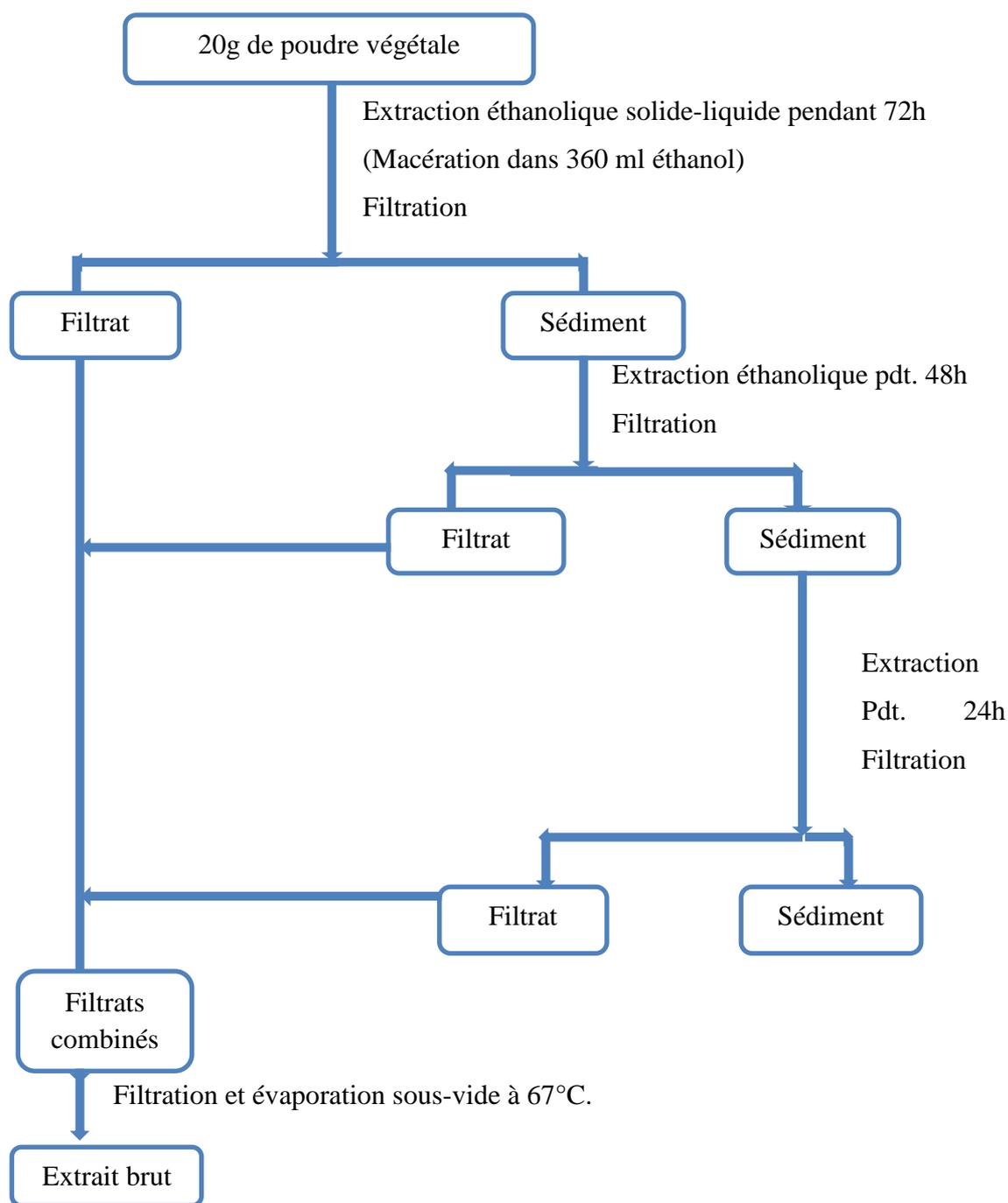
La macération consiste à laisser tremper la matière végétale dans l'eau ou dans un solvant organique à température ambiante plusieurs jours voir semaines et sous agitation. L'extraction a lieu par pénétration du solvant dans les cellules, phénomène provoquant leur gonflement et la rupture des liaisons moléculaires de faible énergie. Les extractibles sont alors dissouts et diffusent progressivement des cellules vers le solvant (Royer et Houde, 2010).

#### II.2.3.2. Mode opératoire

Les extraits éthanoliques ont été obtenus par trois macérations successives sous agitation magnétique et à température ambiante de 20g de la poudre végétale de *Thymus vulgaris* L. dans des volumes définis d'éthanol pendant 24heurs, 48heurs et 72heurs respectivement.

Après chaque intervalle de temps, l'extrait est filtré. Le résidu obtenu est repris pour une deuxième extraction avec un renouvellement de l'éthanol.

A la fin des extractions, le résidu sec est jeté, le filtrat recueilli est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 67°C pour éliminer l'éthanol. Le reste du solvant a été éliminé par séchage à 35°C dans une étuve (Fig.13).



**Figure 13** : Etapes de préparation de l'extrait éthanologique brut par macération

### II.2.3.3. Calcul du rendement

Le calcul du rendement est fait par la formule suivante :

$$R\% = (M - M_0 / M_T) \times 100$$

**Tels que :**

R% :

M : masse du ballon avec l'extrait.

M<sub>0</sub> : masse du ballon vide.

M<sub>T</sub> : masse végétale totale utilisée dans l'extraction.

### II.2.4. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L. vis-à-vis des pucerons

#### II.2.4.1. Préparation des solutions tests (solution insecticide)

Les solutions tests ont été préparées le même jour du traitement par dissolution de l'extrait brut dans éthanol. Quatre doses de l'extrait choisies pour effectuer le test de toxicité sont préparées comme suit :

- ❖ 0,5mg, 1mg, 2mg et 4mg d'extrait éthanolique brut sont mis respectivement dans quatre béchers.
- ❖ On y ajoute dans chacun 1ml d'eau distillée et une goutte de twinn avec agitation pour l'obtention des solutions homogènes à différentes concentrations.
- ❖ L'eau distillée a été utilisée pour traiter les pucerons des lots témoins (T : témoins)

#### II.2.4.2. Réalisation des essais toxicologiques

Pour ce test, le lot (T) est composé de 3 boîtes de pétri. Dans chacune on place 2 feuilles de *Pittosporum*, soit au total 6 feuilles traitées. Chaque feuille est infestée minutieusement par 20 pucerons. Donc 40 Pucerons par boîte, soit au total 120 pucerons dans le lot (T) traitées à l'eau distillées. Le procédé est le même pour les quatre autres lots D1, D2, D3 et D4 traitée respectivement à 0,5mg, 1mg, 2 mg, 4mg.

Enfin les boites de pétri sont bien fermées. Nous avons effectué le dénombrement sous la loupe binoculaire pour chaque lot et pour chaque boîte, après 2 heures, 4 heures, 24 heures, 48 heures et 72 heures de traitement (Fig. 14).



**Figure 14 :** Lots représentant les quatre concentrations (D1, D2, D3, D4) et Témoin

### **II.2.5. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L. vis-à-vis des abeilles mellifères**

#### **II.2.5.1. Préparation des solutions tests (solution insecticide)**

Les solutions tests utilisées pour les abeilles sont les mêmes que celles utilisées pour les pucerons

- ❖ 0,5mg, 1mg, 2mg et 4mg d'extrait éthanolique brut sont mis respectivement dans quatre béchers
- ❖ On y ajoute dans chacun 1ml d'eau distillée et une goutte de twinn avec agitation pour l'obtention des solutions homogènes à différentes concentrations.

#### **II.2.5.2. Réalisation des essais toxicologiques**

Pour ce test, Le lot (T) est composé de 3 bécher. Dans chacune on place un papier filtre. Chaque bécher, on introduit 5 abeilles. Donc 15 abeilles dans le lot (T). Le procédé est le même pour les quatre autres lots D1, D2, D3 et D4 traitées respectivement à 0,5mg, 1mg, 2mg et 4 mg. Enfin les bécher sont recouverts de

moustiquaire. Nous avons effectué le dénombrement, après 10 minutes, 20 minutes et 30 minutes.



**Figure 15** : Lots représentant les différentes concentrations et Témoins

### II.2.6. Exploitation des résultats

- **Evaluation du taux de mortalité**

Le taux de mortalité des insectes témoins et traités est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = (\text{Nombre de mort} / \text{nombre total d'individu}) \times 100$$

- **Correction de la mortalité**

La mortalité observée a été corrigée par la formule d'Abbot (1925) :

$$M_c = (M_2 - M_1 / 100 - M_1) \times 100$$

**M1** : pourcentage de mortalité dans le lot témoin.

**M2** : pourcentage de mortalité dans le lot traité.

**M<sub>c</sub>** : pourcentage de mortalité corrigée.

**-Détermination de la DL50 (Cavelier, 1976) :**

La dose létale 50 (dose létale pour 50% des individus) est une valeur qui nous renseigne sur l'importance de l'effet toxique de notre extrait dans le temps, c'est un indicateur de la toxicité d'une substance. Pour l'estimer, il faut :

Transformer le pourcentage de mortalité corrigée en probits.

Calculer le logarithme décimal des différentes doses utilisées.

Tracer les droites de régression : **Probits = f(log dose)**, les équations des droites de régression sont de type :

$$Y = aX + b \quad \text{Sont déterminées, ou :}$$

**Y** : Probit de mortalité corrigée

**X** : logarithme décimal de la concentration

**a** : la pente

A partir de cette équation, la DL50 est évaluée en remplaçant Y par le chiffre 4 qui correspond à 50% de la mortalité. La DL50 est déterminée pour les différents temps d'observation.

**-Détermination de la TL50 (Cavelier, (1976)**

Pour estimer la TL50 (temps léthal au bout duquel 50% de mortalité sont obtenus), les Droites de régression **Probits = f (log temps)** sont tracées et les équations des droites de régression sont par la suite établies. A partir de celles-ci, les valeurs de la DL50 sont déterminées.

**Analyse de la variance à un facteur**

Les résultats de l'activité des extraits de thymus vulgarisL. Vis-à-vis de la mortalité des pucerons et abeilles, sont soumis à l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur, qui permet de mesurer les effets de chaque dilution de l'extrait de thymus vulgarisL. Sur le paramètre mesuré. Les effets sont estimés à trois seuils de signification, avec :

Effet significatif ;  $P < 0,05$

Effet très significatif ;  $P < 0,01$

Effet hautement significatif ;  $P < 0,001$

NS : Effet non significatif.

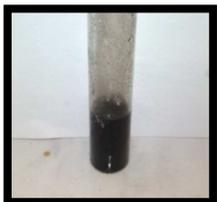
**Chapitre III - Résultats et discussion**

Dans cette partie, seront exposés les résultats obtenus pour les différentes études.

**III.1.Résultats****III.1.1.Screening phytochimique**

Les résultats des tests phytochimiques sont représentés dans le tableau 4.

**Tableau 4 :** Résultats des tests phytochimiques réalisés sur la poudre des feuilles de *Thymus vulgaris* L.

<b>Composés chimiques</b>	<b>Résultat prévus</b>	<b>Résultat obtenus</b>
<b>Anthocyanes</b>	<b>Coloration rouge</b>	 ++
<b>Tannins totaux</b>	<b>Coloration bleu-noire</b>	 +++
<b>Tannins catéchiques</b>	<b>Coloration rouge</b>	 +++
<b>Tannins galliques</b>	<b>Coloration bleu- foncé</b>	

		+++
<b>Flavonoïdes</b>	<b>Coloration rouge orange</b>	 +++
<b>Leucocyanes</b>	<b>Coloration rouge</b>	 -
<b>Amidon</b>	<b>Coloration bleu-violette</b>	 -
<b>Alcaloïdes</b>	<b>Précipité rouge</b>	 ++
<b>Glucosides</b>	<b>Coloration rouge brique</b>	 +++

<b>Saponosïdes</b>	<b>Précipité blanc</b>	 +++
<b>Mucilage</b>	<b>Précipité floconneux</b>	 +++
<b>Irrodoïdes</b>	<b>Coloration bleu</b>	 -
<b>Coumarines</b>	<b>Formation d'un trouble</b>	 ++
<b>Quinone</b>	<b>Coloration rouge</b>	 +

Dont :

(-) : Absence de substances.

(+) : Faible teneur en substances.

(++) : Moyenne teneur en substances.

(+++): Forte teneur en substances.

D'après le tableau 4, les résultats obtenus du test phytochimique réalisé sur la poudre de feuilles de *Thymus vulgaris* L. montrent une richesse en flavonoïdes, en tannins, en mucilages, en saponosides et en glucosides. Cependant, cette espèce est moyennement riche en coumarines, en alcaloïdes, en anthocyanes, et renferme des quinones en faible teneur. Enfin, les feuilles du thym sont dépourvues d'amidon, d'irridoides et de leucocyanes.

### III.1.2. Rendement de l'extrait brut

L'extraction a permis d'obtenir un extrait brut d'une couleur verte foncée. Les rendements des extractions réalisées par macération et ultrason sont consignés dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Rendement des poudres des feuilles du thym

Paramètres	Poids (g)
La masse de l'extrait	6
La masse de ballon	336
La masse de ballon +l'extrait	342
La masse totale de poudre utilisée	20

Le rendement de l'extraction brut obtenu à partir de la poudre des feuilles *Thymus vulgaris* L. est de 30 %.

### III.1.3. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L. vis-à-vis du puceron noir *Aphis fabae*

#### III.1.3.1. Résultats

Les résultats de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de *T. vulgaris* vis-à-vis d'*Aphis fabae* sont portés dans les tableaux 6, 7 et 8.

**Tableau 6 :** Pourcentage de mortalité cumulée des pucerons noirs en fonction du temps et des différentes doses de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* (R : répétition, T : témoin, h : heure, D : dose)

Doses mg/ml	D1= 0,5 mg/ml			D2= 1 mg/ml			D3= 2 mg/ml			D4= 4 mg/ml			T		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
2h	0	0	0	0	0	0	5	5	7,5	7,5	12,5	15	0	0	0
4h	5	7,5	10	12,5	7,5	15	22,5	17,5	20	85	87,5	82,5	0	0	0
24h	17,5	25	35	40	52,5	47,5	82,5	95	92,5	100	100	100	0	0	0
48h	52,5	75,5	70	80	82,5	92,5	100	100	100	100	100	100	12,5	7,5	15
72h	95	92,5	97,5	100	100	100	100	100	100	100	100	100	17,5	12,5	17,5
96h	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	22,5	25	20

**Tableau 7 :** Pourcentage des mortalités moyennes des pucerons en fonction du temps et différentes doses de l'extrait éthanolique de *Thymus vulgaris* L.

Doses (mg / ml) Temps	D1= 0,5 mg/ml	D2=1 mg/ml	D3= 2 mg / ml	D4= 4 mg/ml	T
2h	0%	0%	5,83%	11,66%	0%
4h	7,5%	11,66%	20%	85%	0%
24h	25,83%	46,66%	90%	100%	0%
48h	66%	85%	100%	100%	11,66%
72h	95%	100%	100%	100%	15,83%
96h	100%	100%	100%	100%	22,5%

**Tableau 8 :** Pourcentage des mortalités corrigées des pucerons en fonction du temps  
Et différentes doses de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L.

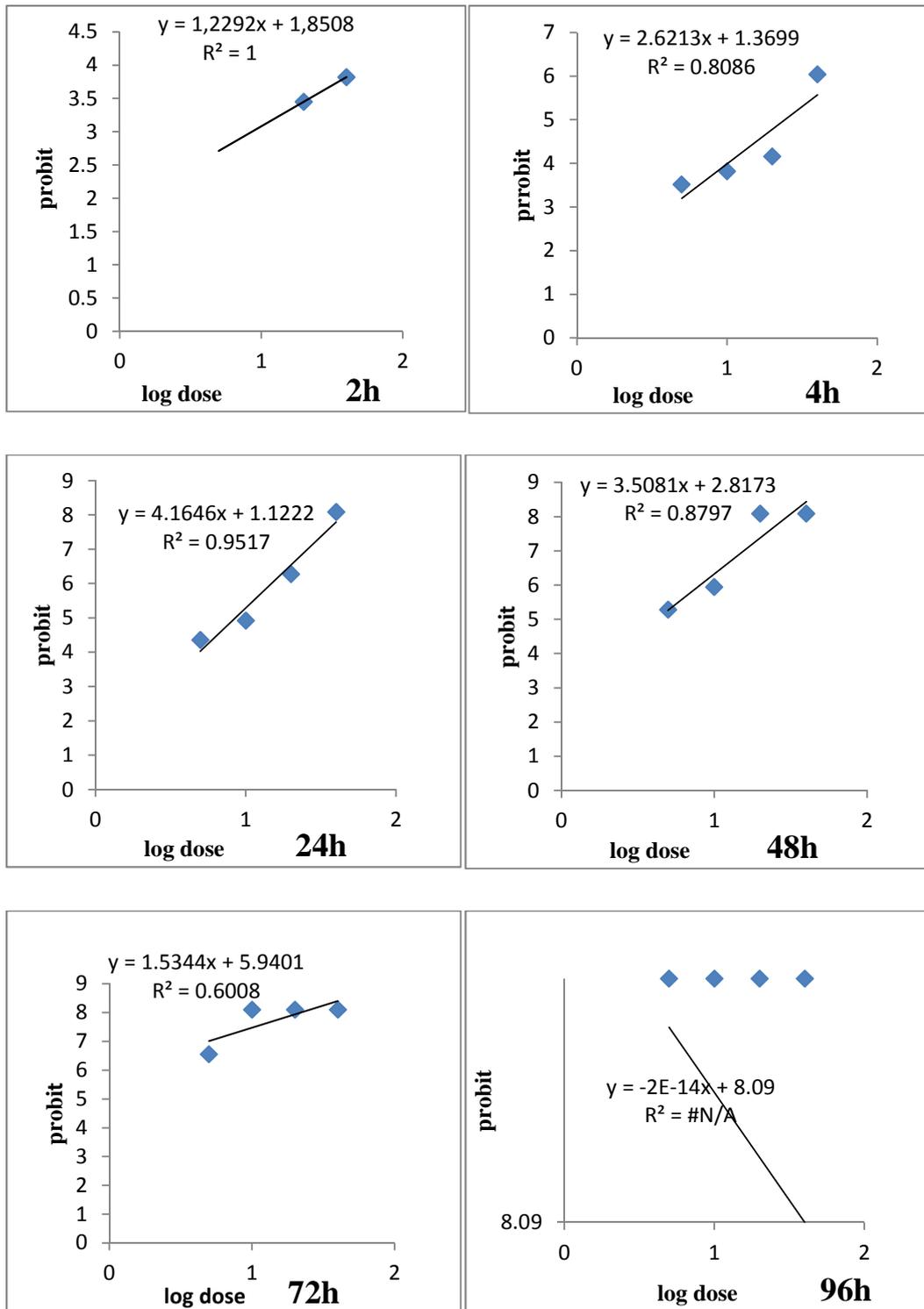
Doses mg /ml Temps	D1= 0,5 mg/ml	D2= 1 mg/ml	D3= 2 mg/ml	D4=4 mg/ml
2h	0%	0%	5,83%	11,66%
4h	7,5%	11,66%	20%	85%
24h	25,83%	46,66%	90%	100%
48h	61,51%	83,02%	100%	100%
72h	94,05%	100%	100%	100%
96Ah	100%	100%	100%	100%

On remarque que le pourcentage de mortalité augmente avec le temps et atteint 100% après 4 jours pour la dose la plus faible. Tandis que ce temps est court avec les fortes doses D2, D3 et D4. Les 100% de mortalité sont obtenus avec la dose la plus forte D4, au bout de 24h de temps.

**Remarque :** au départ, on a utilisé l'éthanol pour traiter les lots témoin et diluer les doses, on a constaté une mortalité totale des pucerons au moment de l'application sur tous les lots traités et lots ayant servi de témoin (T : éthanol)

### III.1.3.2. Evaluation de la dose létale 50

Le calcul des DL50 est fait à partir des droites de régressions Probit= $f$  log (dose) représentées dans la figure 16.



**Figure16 : Droites de régressons : Probit=f log (dose) des pucerons noirs de la Fève traités par l'extrait brut de *Thymus vulgaris* en fonction du Temps d'observation**

A partir des équations de chaque graphe, on a calculé les valeurs de la DL50, ces dernières sont représentées dans le tableau 9.

**Tableau 9 :** Valeurs des doses létales 50 (DL50) de la population des pucerons traitées par l'extrait éthanolique brut de *T.vulgaris*

Temps(h)	Equations des droites de régression	Carré de Coefficients de régression	Coefficients de régression	DL50 (mg/ml)
2h	$Y=1,2292X+1,8508$	$R^2 =1$	$R= 1$	36,474
4h	$Y=2,6213X+1,3699$	$R^2= 0,8086$	$R= 0,8992$	2,425
24h	$Y=4,1646X+1,1222$	$R^2=0,9517$	$R= 0,9755$	0,853
48h	$Y=3,5081X+2,8173$	$R^2=0,8797$	$R= 0,9379$	0,419
72h	$Y=1,5344X+5,9401$	$R^2=0,6008$	$R= 0,7751$	0,244
96h	$Y=8,09$			

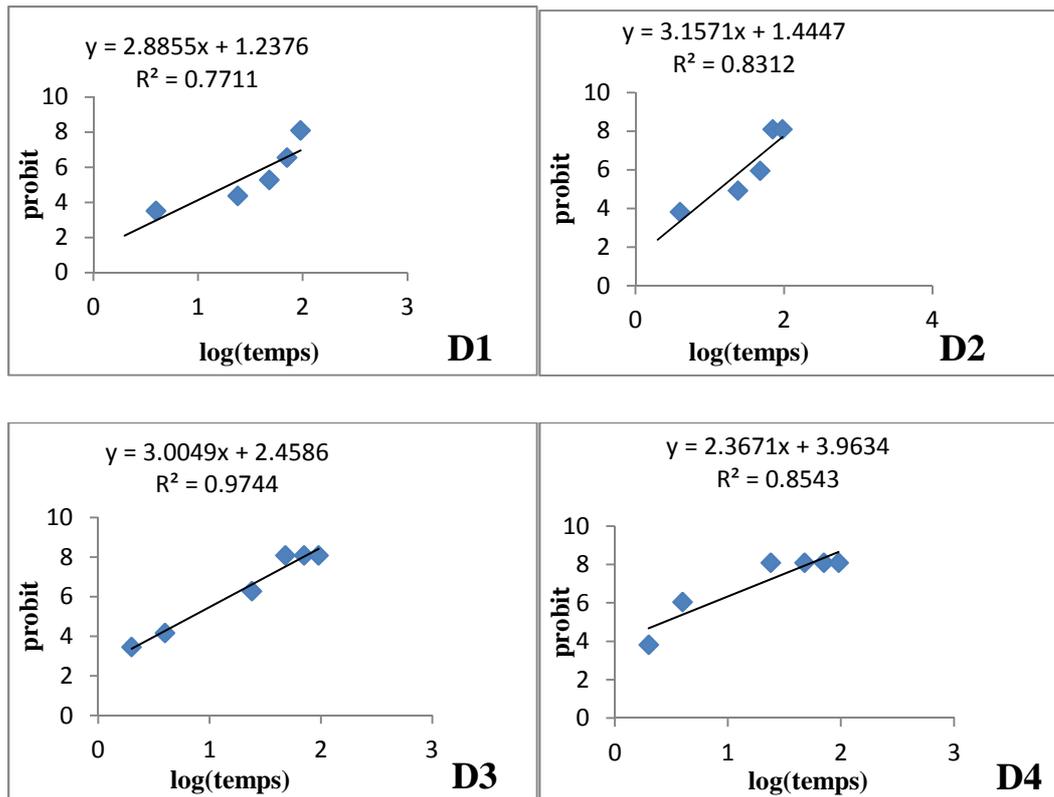
D'après les résultats notés sur la figure 16, on remarque que la dose létale 50 pour le temps d'observation le plus court (2h) est de 36,474 mg/ml. La DL50 obtenue après 4h est de 2,425mg/ml et 0,853mg/ml après 24h. La dose létale la plus faible est obtenue après 72h et elle est de 0,244mg/ml.

On remarque que la dose létale DL50 est proportionnelle au temps. La dose la plus importante est obtenue après des temps de traitement courts, tandis que les DL50 les plus faibles sont obtenues avec les temps d'observation les plus longs.

### III.1.3.3.Détermination des temps létaux 50 (TL50)

La détermination du temps létaux 50 des différents temps de l'extrait éthanolique brut de *T. vulgaris* testés sur les pucerons a été calculée à partir des droites de régression : Probité en fonction du logarithme des temps de traitement.

Les résultats des TL50 sont notés dans la figure 17 et le tableau 10.



**Figure17 : Droites de régression Probit= $f$  log (temps) des pucerons noirs de la fève traités à l'extrait éthanolique brut de *T. vulgaris* aux différentes doses testées.**

A partir des équations de chaque graphe, on a calculé les valeurs de la TL50, ces dernières sont représentées dans le tableau 10.

**Tableau 10:** Valeurs des temps létaux 50 (TL50) des populations de pucerons traitées à l'extrait éthanolique brut de *T.vulgaris* L.

Dose mg/ml	Equation des droites de régression	Carré de Coefficients de régression	Coefficients de régression	TL50 en heure
0,5mg/ml	$Y=2,8855X+1,2376$	$R^2=0,7711$	$R=0,8781$	20,132
1mg/ml	$Y=3,1571X+1,4447$	$R^2=0,8312$	$R=0,911$	13,369
2mg/ml	$Y=3,0049X+2,4586$	$R^2=0,9744$	$R=0,9871$	6,91
4mg/ml	$Y=2,3671X+3,9634$	$R^2=0,8543$	$R=0,9242$	2,97

D'après le (figure17) et le tableau 10, les résultats obtenus montrent que : le temps létal 50 obtenu est de 20,132 h pour la doses la plus faible D1, il est long, Tandis que le temps létal le plus court est de 2,97h, il est obtenu avec la doses D4.

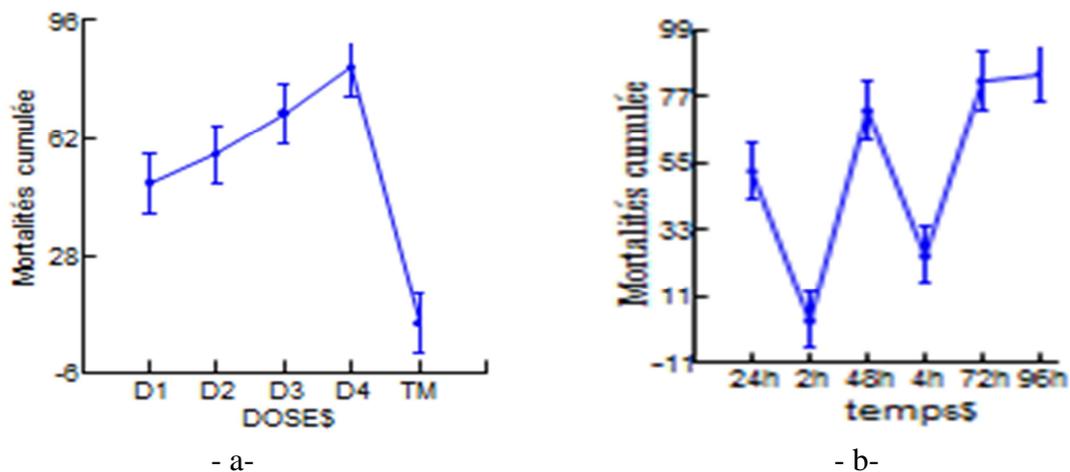
❖ **Résultat de l'analyse statistique**

➤ **Pourcentage de mortalité cumulée (Tab. 11 ; Fig. 18)**

**Tableau 11** : Analyse statistique de variance ente les pourcentages mortalités Cumulées des pucerons en fonction des doses et du temps

Analyse de variance					
Source	Somme des carres	ddl	Moyennes des écarts	f-ratio	P
<b>Temps</b>	27452.267	5	5490.453	12.376	0.000
<b>Doses</b>	19198.467	4	4799.617	10.819	0.000
<b>Erreur</b>	8872.733	20	443.637		

P : probabilité



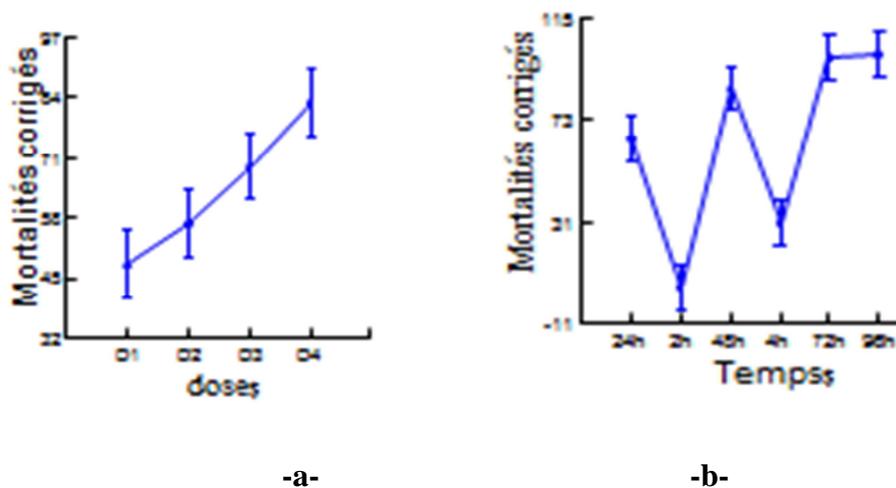
**Figure 18** : Graphes de l'analyse statistique

L'ANOVA indique que la différence entre les mortalités cumulées est hautement significative selon le temps et la dose de traitement ( $P= 0,000$ ) calculé.

➤ **Pourcentage de mortalité corrigée (Tab. 12 ; Fig. 19)**

**Tableau 12 :** Analyse statistique de variance ente les pourcentages de mortalités Corrigés des pucerons en fonction des doses et du temps

Analyse de variance					
Source	Somme des carres	ddl	Moyennes des écarts	f-ratio	P
Temps	30709.333	5	6141.867	19.126	0.000
Doses	4141.500	3	1380.500	4.299	0.022
Error	4817 .000	15	321.133		



**Figure 19 :** Les graphes de l'analyse statistique

La différence entre les mortalités corrigées est hautement significative selon le temps ( $p=0,000$ ), et est significative selon les doses de traitement ( $p=0,022$ ). La meilleure dose qui a provoqué une mortalité considérable est celle de la dose D4, plus on augmente la concentration plus la mortalité augmente (Fig. 19a), cette mortalité semble être élevée après 72 h de contacté avec le traitement (Fig. 19b).

La variation observée entre 24h et 72h est peut être due aux types et nombre de populations mâles ou femelles dans l'échantillonnage et qui présentent une résistance

différente au traitement mais après 72h toute la population répond à la toxicité du produit.

### III.1.4. Evaluation de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L. vis-à-vis de l'abeille domestique *Apis mellifera*

#### III.1.4.1. Résultats

Les résultats de l'activité insecticide de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* L. vis-à-vis d'*Apis mellifera* sont portés dans les tableaux 13 et 14.

**Tableau 13 :** Pourcentages des mortalités cumulées des abeilles en fonction du temps et des différentes doses

Doses mg/ml Temps	D1=0,5mg /ml			D2=1 mg/ml			D3=2 mg/ml			D4=4 mg /ml			T		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
10min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	20	0	0	0
20min	0	0	0	20	60	60	20	20	60	80	60	20	0	0	0
30min	0	0	0	20	80	80	20	20	60	80	80	60	0	0	0

R : répétition, T : témoin, h : heure, D : dose

**Tableau 14 :** Pourcentage de mortalité corrigée des abeilles en fonction de temps et Des différentes doses

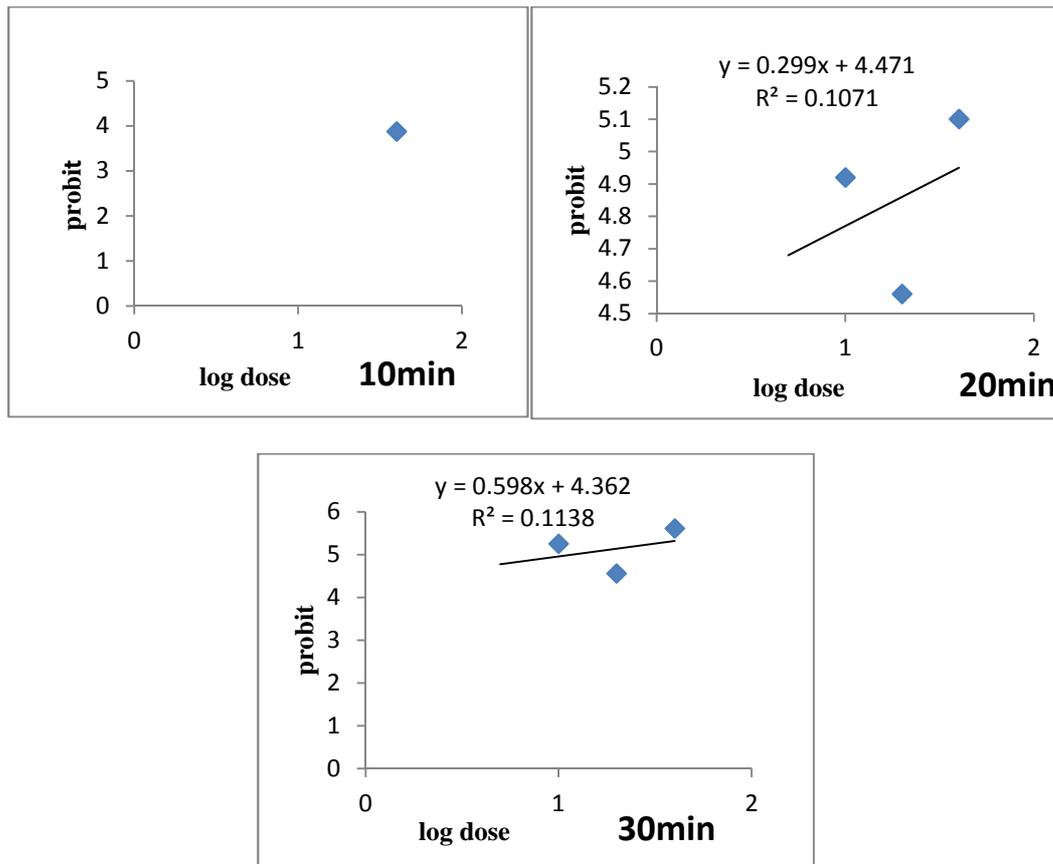
Doses mg /ml Temps	D1= 0,5 g /ml	D2=1 mg/ml	D3=2 mg/ml	D4=4 mg/ml
10min	0	0	0	13,33
20min	0	46,66	33,33	53,83
30min	0	60	33,33	73,33

On remarque que le pourcentage de mortalité augmente avec le temps, les mortalités augmentent avec l'augmentation de la dose. On constate des comportements

spécifiques (perturbations) aux abeilles par rapport à leurs besoins en nutrition et en eau pendant chaque 30min, l'abeille ne supporte pas les milieux fermés et le stress.

### III.1.4.2. Evaluation de la dose létale 50

Le calcul des DL50 est fait à partir des droites de régressions  $\text{Probit} = f \log(\text{dose})$  représentées dans la figure 20.



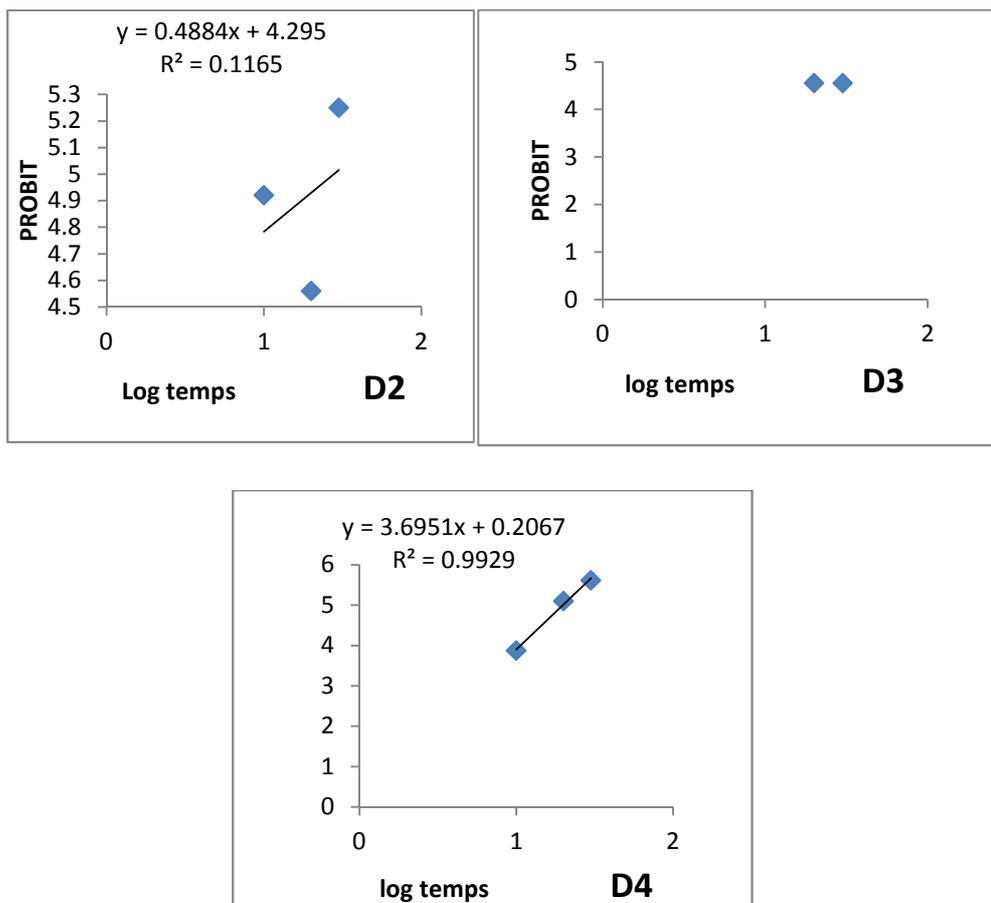
**Figure 20 : Droites de régression :  $\text{Probit} = f \log(\text{dose})$  des abeilles domestiques traitées par l'extrait brut de *T. vulgaris* L. en fonction du temps d'observation**

A partir des équations de chaque graphe, on a calculé les valeurs de la DL50, ces dernières sont représentées dans le tableau 15.

**Tableau 15:** Valeurs des doses létales 50 (DL50) de la population d'abeilles traitées  
Par l'extrait éthanolique brut de *T. vulgaris*.

Temps (min)	Equations des droites de régression	Carré de Coefficients de régression	Coefficients de régression	DL50 (mg/ml)
10min	-	-	-	-
20min	$Y=0,299X+4,417$	$R^2=0,1071$	$R= 0,3272$	8,909
30min	$Y=0,598X+4, 362$	$R^2=0,1138$	$R= 0, 337$	1,166

### III.1.4.3.Détermination des temps létaux 50 (TL50)



**Figure 21 :** Droites de régression Probit =  $f$ log (temps) des abeilles traités par l'extrait  
Éthanolique brut de *Thymus vulgaris* en fonction des doses

Les résultats des valeurs TL50 sont portés dans le tableau 16.

**Tableau 16 :** Valeurs des temps létaux 50 (TL50) des populations des abeilles traitées

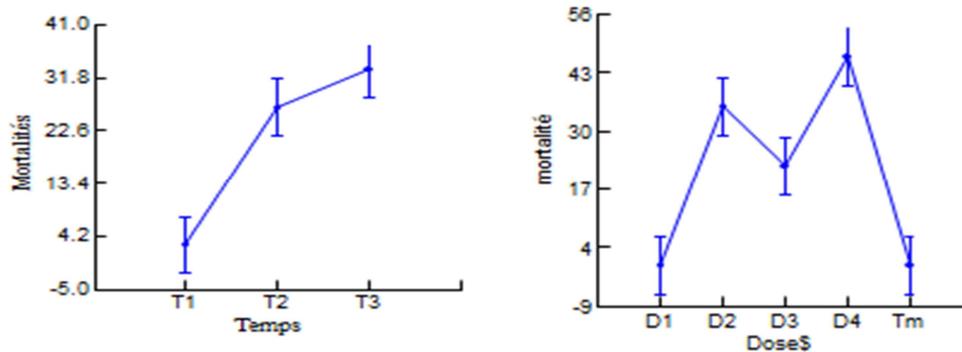
Dose mg/ml	Equation des droites de régression	Carré de Coefficients de régression	Coefficients de régression	TL50 en min
0,5mg/ml	-	-	-	-
1mg/ml	$Y=0,4884X+4,295$	$R^2=0,1165$	$R= 0, 3413$	27,76
2mg/ml	-	-	-	-
4mg/ml	$Y=3,6951X+0,2067$	$R^2=0,9929$	$R=0,9964$	19,82

❖ **Résultat de l'analyse statistique**

➤ **Mortalités**

**Tableau 17 :** Analyse de variance

Analyse de variance					
Source	Somme des carrés	ddl	Moyennes des écarts	f-ratio	P
Doses	15786.667	4	3946 .667	10.733	0.000
Temps	7804.444	2	3902.222	10.612	0 .000
Error	13973.333	38	367.719		



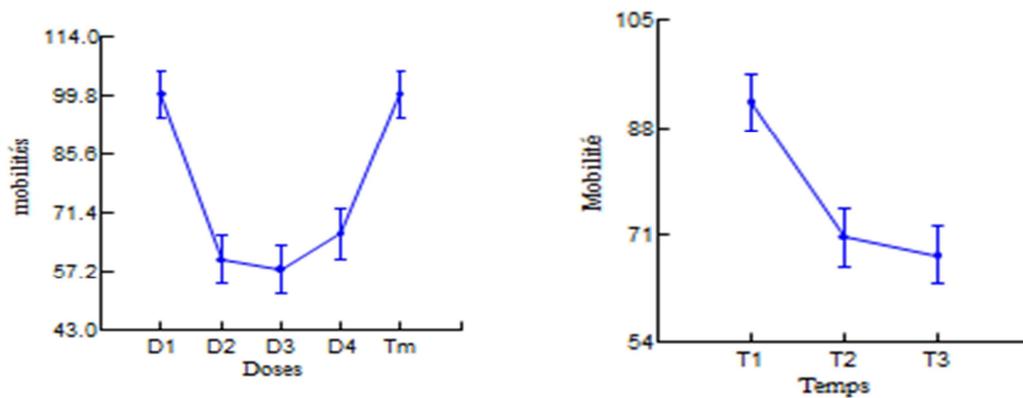
**Figure 22.** Les graphes de l'analyse statistique

La variation de toxicité effectuée par le test GLM montre que la différence d'effet sur les abeilles est hautement significative selon la dose et le temps de contact ( $p=0,000$ ).

➤ **Mobilité**

**Tableau 18** : Analyse de variance

Analyse de variance					
Source	Somme des carrés	ddl	Moyennes des écarts	F-ratio	P
doses	16346.165	4	4086.541	13.550	0.000
Temps	5146.959	2	2573.480	8.533	0.001
Erreur	11158.596	37	301.584		



**Figure 23**: Les graphes de l'analyse statistique

La toxicité varie d'une manière hautement significative selon la dose ( $p=0,000$ ) et très significative selon le temps de contact ( $p=0,001$ ).

-L'analyse par le test Anova

Tableau 19 : Analyse de variance

Analyse de variance					
Source	Somme des carrés	ddl	Moyennes des écarts	F-ratio	P
doses	16270.588	4	4067.647	24.575	0.000
Temps	5080.000	2	2540.000	15.346	0.000
Doses-Temps	6358.596	8	794.825	4.802	0.001
Erreur	4800.000	29	165.517		

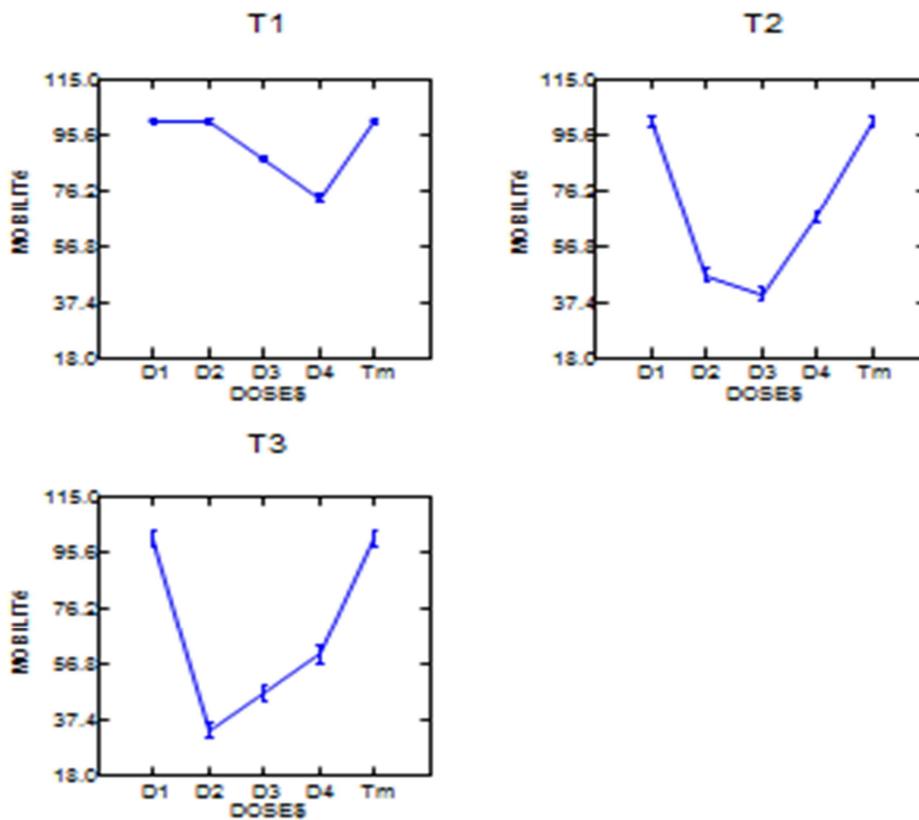


Figure 24 : les graphes de l'analyse statistique

Ce test Anova montre l'interaction entre les facteurs dose et temps de contact.

L'analyse par le test Anova montre une interaction très significative entre le facteur dose et temps sur la mobilité des abeilles ( $p=0,001$ ).

### III.2. Discussion

#### III.2.1. Tests phytochimiques

D'après nos résultats de l'analyse phytochimique de *Thymus vulgaris* L. il ressort que notre plante présente majoritairement des flavonoides, des glucosides, des tannins, des saponosides et du mucilage. Elle est moyennement riche en alcaloïdes, en anthocyanes comme elle renferme des quinones en très faible quantité.

Des études faites par Kulisic *et al.* (2006) révèlent la présence des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes, catéchine et anthocyanine, des mucilages et saponosides dans l'infusion aqueuse préparée du *Thymus vulgaris*. Ce qui confirme en partie nos résultats obtenus lors du screening phytochimique.

#### III.2.2. Rendement de l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris*

Concernant le rendement d'extraction des principes actifs de *Thymus vulgaris*, il est difficile de comparer les valeurs de nos rendements avec d'autres études, car le rendement n'est que relative et semble être lié aux propriétés génétiques des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte et aussi des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (LEE *et al.*, 2003).

#### III.2.3. Evaluation de la toxicité de l'extrait brut éthanolique du *T. vulgaris* vis-à-vis des pucerons noirs de la fève

La toxicité de l'extrait éthanolique brut du thym vulgaire vis-à-vis des pucerons noirs de la fève est élevée. Par conséquent, l'activité insecticide de l'extrait est forte. *Thymus vulgaris* pourrait être donc une source d'insecticide naturelle. Le traitement par contact des Adulte d'*Aphis fabae* par l'extrait brut éthanolique du thym a montré des taux de mortalité élevés pour la plus forte dose (4mg) par rapport aux trois faibles doses (0,5mg, 1mg et 2mg). Aussi, les taux de mortalité étaient croissants dans le temps.

De nombreux travaux ont évalué l'effet insecticide de plusieurs plantes aromatiques. A titre d'exemple, selon Bouchikhi (2011), les poudres extraites des plantes d'*Artemisia herba-alba* (Asteracées), *Rosmarinus officinalis* et *Origanum*

*glandulosum* (Lamiacées) diminuent considérablement la longévité des adultes du bruche du haricot *Acanthoscelide obtectus* (Coleoptera).

Par ailleurs, des travaux similaires ont été faits par Benoufella-kitous *et al.* (2014) ayant montré l'effet toxique des extraits de l'ortie et ceux de la fougère sur la population d'*Aphis fabea* et que la mortalité était élevée par rapport aux témoins, ainsi que les faibles doses donnaient des résultats négligeables par rapport aux fortes doses.

Tapondjou *et al.* (2003) ont évalué l'effet insecticide de poudres extraites des feuilles de *C.ambrosioides* (thé du mexique) et *Eucalyptus saligna* vis-à-vis de bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*). Les résultats des tests par contact montrent qu'après quatre jours, les plus fortes doses de poudre (0,4 % dans le cas de *C. ambrosioides* et 10% dans le cas de *E. saligna*) ont occasionné respectivement des mortalités de 92 et 57% et les valeurs de DL50 calculées au deuxième jour d'exposition montrent que la poudre de *C. ambrosioides* est plus efficace que celle de *E. saligna*.

L'activité larvicide très importante observée chez l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* pourrait être expliquée par l'action ou l'effet des composées majoritaires. En effet, l'huile de thym est caractérisée par une teneur élevée en thymol de 41%, connu pour ses propriétés antiseptiques Imelouane *et al.* (2009).

#### **III.2.4. Evaluation de la toxicité de l'extrait brut éthanolique du *Thymus vulgaris* vis-à-vis de abeilles domestiques**

L'abeille domestique est un des principaux pollinisateurs des plantes et des arbres fruitiers entomophiles. L'impact de sa disparition serait désastreux pour l'agriculture et la biodiversité. L'abeille est pourtant soumise durant toute sa vie à de nombreux stress toxiques environnementaux. La détermination du risque toxique encouru par les abeilles est donc une nécessité absolue pour sa protection. Ce risque est le fruit d'un rapport entre la toxicité d'un composé et les doses auxquelles les individus sont exposés. De nombreuses études se sont penchées sur la mesure des concentrations environnementales de nombreux composés potentiellement toxiques pour l'abeille. Mais force est de constater qu'à l'opposé, le nombre d'études visant à déterminer la toxicité de ces composés pour l'abeille est très limité.

Dans notre étude, on a testé la toxicité de l'extrait éthanolique brut sur l'abeille avec trois doses (D2=1ml), (D3=2ml) et (D4=4ml). Le taux de toxicité augmente quand les concentrations des doses sont augmentées. Par ailleurs, pour la dose minimale (D1=0,5ml) n'a aucun effet toxique sur l'abeille.

Les études scientifiques conduites lors des mortalités hivernales ont montré l'importance des agents Infectieux dans ce type de mortalité. L'acarien *Varroa destructor* ainsi que les méthodes de la lutte peu efficaces contre cet agent pathogène apparaissent comme un facteur de risque majeur de mortalité hivernale des colonies d'abeilles. Chiron et Hattenberger (2009) soulignent que le traitement par fumigation du lot 1 a engendré une mortalité importante en mois de mai. Cette période a coïncidé avec l'émergence ou l'éclosion des jeunes abeilles de leurs cellules et donc la libération des varroas qui étaient fixés sur leurs corps et leur exposition aux fumées du traitement qui les ont neutralisés. Par contre, pour le lot 2 non traité, en comparant la mortalité quotidienne à celle établie lors du diagnostic, on constate qu'elle est plus élevée, car en cette période de grande chaleur les acariens deviennent plus vulnérable. Ceci confirme les résultats de Robaux (1986), qui a constaté que durant cette même période, le taux de mortalité peut atteindre 68%. L'expérience était répétée chaque année et cela pendant trois années successives (2010,2011, 2012). Les analyses statistiques ont montré ainsi que la variance est hautement significative entre les deux facteurs : le *Thymus vulgaris* et la période de traitement. Mais la faible efficacité du traitement est dû à la présence des couvains operculés qui empêchent la pénétration des fumées de thym (Sammataro et al, 2009).

Dans des études diverses plus de 150 huiles essentielles différentes ont été testées pour des effets contre le *Varroa destructor*. Cependant, seulement l'huile de thym, de sauge et d'origan ont prouvé une efficacité suffisante lors de l'application dans les colonies d'abeilles (Imdorf, 2006). Dans ce contexte, et dans le même ordre d'idées, cette étude basée sur le traitement des abeilles doit être approfondie par d'autres travaux de recherche (tels que le traitement par inhalation ou par ingestion de l'huile essentielle de thym) pour consolider, renforcer et compléter nos résultats.

# Conclusion générale

---

## Conclusion et perspectives

Le présent travail nous a permis de contribuer à l'étude du profil chimique de l'extrait du *Thymus vulgaris* L. et l'évaluation des activités insecticides de ces molécules bioactives. Cela pourrait être une alternative à la lutte par les insecticides chimiques contre les ravageurs des cultures maraichères tout en respectant l'environnement.

Par cette étude aussi minime soit-elle, nous avons essayé de mettre en valeur les potentialités agro phytosanitaires de *Thymus vulgaris* L, par des tests phytochimiques sur la partie aérienne de cette plante et une évaluation de l'activité insecticide vis-à-vis des pucerons noirs de la fève et des abeilles domestiques.

Premièrement, nous sommes nous intéressées à mettre en évidence, les différents métabolites secondaires présents dans la plante par des tests qualitatifs révélant la présence des flavonoides, des tannins, des saponosides, des glucosides, du mucilage comme des composés majeurs de cette plante.

La détermination des rendements d'extraction a montré un rendement de 30% de l'extrait éthanolique brut.

L'étude de l'activité bioinsecticide des extraits éthanoliques bruts de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* sur les pucerons, révèle que la mortalité corrigée des pucerons traités était différente d'une dose à une autre. Le taux de mortalité atteint 100% au bout de 4 jours après traitement à la faible dose D1 et au bout de 24 heures après traitement à la forte dose D4.

Une forte activité insecticide de l'extrait éthanolique brut est remarquée du fait que les DL50 et les TL50 enregistrées sont relativement étroites en comparaison avec d'autres études.

Par contre, l'étude de l'activité biologique des extraits bruts de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* sur les abeilles, révèle que la mortalité corrigée des abeilles traitées était différente d'une dose à une autre. Le taux de mortalité atteint 0% au bout de 30min après traitement à la faible dose D1, et le taux de mortalité atteint 73,33% au bout de 30min après traitement à la forte dose D4.

## Conclusion générale

---

Compte tenu de tous les résultats obtenus, l'extrait éthanolique brut de *Thymus vulgaris* est toxique à la faible dose (D1).

En perspectives,

- Il serait intéressant de tester l'efficacité insecticide du thym sous abri-serres dans les conditions non contrôlées afin de tester l'interaction des différents facteurs.
- Tester les autres méthodes d'extractions et évaluer le rendement des substances obtenues.
- Caractériser des constituants de cette plante par des méthodes analytiques plus performante comme : L'HPLC, GC-SM et RMN.
- Tenter de formuler un produit galénique pour les produits pharmaceutiques et sanitaire à base de substances bioactives de cette plante.

## Annexes

---

**Annexe1** : matériels utilisés.

Verreries	Appareillages et dispositifs
Ballons	Rotavapeur
Fioles	Plaque chauffante
Entonnoirs	Bain marie
Béchers	Etuve
Tube à essai	Autoclave
Burettes graduées	Réfrigérants
Pipettes	La loupe binoculaire
	Mixeurs

❖ Préparation des réactifs

**Le réactif de dragendroff :**

**S1** : on fait dissoudre 0,85 de nitrate de bismuth dans 40ml d'eau distillée et on y ajoute 10ml d'acide acétique

**S2** : on dissout 20g d'iodure de potassium dans 80ml d'eau distillée on mélange les 2 solutions 1et 2 puis on prélève 10ml de mélange et on y ajoute 100ml l'eau distillée et 20ml d'acide acétique= solution orange

## Annexes

---

## Annexes

### Annexe 2 : Produits utilisés.

Produit chimique	Formule chimique
Acide chlorhydrique	HCl
Ammoniaque	NH <sub>4</sub> OH
Ether	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O
Chloroforme	CHCl <sub>3</sub>
Acétate de plomb	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> Pb
Hydroxyde de potassium	KOH
Acétate d'éthyle	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
Acétone	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O
Acide formique	CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Carbonate de sodium	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Ether de pétrole	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -CH <sub>3</sub>
Ether éthylique	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O
Méthanol	CH <sub>4</sub> O
Propanol-1	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O
Iode sublimé pur	I <sub>2</sub>
Butanol	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH <sub>2</sub>
Acide acétique anhydre	CH <sub>3</sub> COOH
Chlorure de fer anhydrique	FeCl <sub>3</sub>
Ethanol absolu	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH

## Annexes

---

**Annexe 3 : tableau de Probit**

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,5	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,9	4,92	4,95	4,97
50	5	5,03	5,05	5,08	5,1	5,13	5,15	5,18	5,2	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,5
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,75	7,75	7,88	8,09

# Référence bibliographique

---

## Références bibliographiques

- 1. ABBOT W.S. (1925).**, A methode of computing the effectiveness of an insecticide. *J.Entomol.*265-267
- 2. ADRIAN J ; FRANGNE R, (1991).** La science Alimentaire de A à Z, Ed. *Lavoisier, Paris*
- 3. ADWAN G., ABU-SHANAB B., ADWAN K., ABU-SHANAB F. (2009)** Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* *Turk. J. Biol.* **30** : 239-242.
- 4. ADZET T., VIIA R., CAFIIGUERAL S. (1988)** Chromatographic analysis of polyphenols of some Iberian *Thymus*. *J. Ethnopharm.* **24** : 147-154.
- 5. AGRAPHID., HULLEM. (1999).** Les pucerons des plantes maraichères. Cycles biologiques et activités de vol. ACTA/INRA édition, paris, 136p.
- 6. AL- BAYATI F. A. (2008).** *Journal of ethnopharmacology.*166 (3) : 403- 406.
- 7. ALFORD D.V., 2013.** Atlas en couleur. Ravageurs des végétaux d'ornement : arbres, ardustes fleurs. INRA edition, paris ; 23-92.
- 8. ALLEN KG; BANTHORPE D V; CHARLWOOD BV., (1977).** *Phytochemistry* **16**: 79-83.
- 9. AMIOT J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier.*
- 10. AMIRAT, N. TEBBOUB, S AND SEBTI, M. (2011).** Effets insecticides des huiles essentielles chémotypées de deux plantes aromatiques *lavandula stoechas* et *origanum glandulosum* de la région de jijel. *Année Internationale des forêts*, 1 p.
- 11. AYAD R., (2008).** Recherche et détermination structural des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, mémoire magister en chimie organique, université Mentounri Costantine pp 35-47.

## Référence bibliographique

---

- 12. BALLADIN D.A; HEADLEY, O. (1999).** Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* Linné) herlos. *Renewable Energy*. **17**: 523-531.
- 13. BARBONI T., 2006.** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.
- 14. BAZYLKO.A. et STRZELECKA H. (2007)-** *Fitotherapia* ; 78 ; 391-395.
- 15. BEDIAGA M.,(2011).** etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. thèse de doctora. Universit de bamako. p 10.
- 16. BELBACHE H .,( 2003).**Investigation phytochimique de l'extrait chloroforme de *Centaurea Parviflora Desf.* Mémoire de magister en chimie organique. Université Mentouri Costantine. Pp 16-20.
- 17. BENAÏSSA O.,(2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
- 18. BENAROUS K., (2009).** *Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: a amylase, trypsine et lipase* ; université Amar Telidji Laghouat, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique.
- 19. BERNARD CHANBET, CHALES-ANTOINE DEDRYVER, EVELYNE TURPEAU-AIT LGHIL, MAURICE HULLER. (2011)** Les pucerons des grandes cultures cycles biologiques et activités de vol ; édition Quae, P34, 35.
- 20. BOELENS P.G; VAN NORREN K; VAN L.,(2001).** *American journal of clinical nutrition*. 74 : 418-425.

## Référence bibliographique

---

21. **BOOTH, N.L., DEJAN, N., RICHARD, B., STOCI, E. (2004).** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. p50, 120-123.
22. **BOUAKAZ I., (2006).** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire de magister, Batna
23. **BOUCHIKHI TANI Z.( 2011).** Lutte contre la bruche du haricot *Acamthoscelides obtectus* (coleoptera, bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de Doctorat en sciences biologiques. Université Abou baker belkaid, Tlemcen. 147p.
24. **BOUHDID S., IDAOMAR, M. ; ZHIRI, A.; BOUHDID, D.; SKALI, N. S. ; ABRINI, J. (2006)** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir*. 324-327.
25. **BRAULT V., UZEST M., MONSION B., JAQUOT E., BLANC.,(2010).**Aphids as transport devices for plant viruses les pucerons ; un moyen de transport des virus de plante. *C.R. Biologies* 333 :p525-531.
26. **BRUNETON J. (1993)** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. *2ème Ed Tec&Doc. Paris*.
27. **BRUNETON J., (1993).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Technique et documentation Lavoisier,Paris p 915
28. **BRUNETON J., (1999).** *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème Ed Tec & Doc. Paris pp 101-120.
29. **CASLEY-SMITH J; PILLER NB., (1993).** Treatment of Lymphedema of the Arms and Legs with 5, 6-Benzo pyrone, *New Engel. J. Med.*, **329**, pp 1158-1163.
30. **CAVELIER A, (1976).** Cours de phytopharmacie. Inst, Nat, Agro, EL Harrach.
31. **CHIRON, J, HATTENBERGER, AM. (2009)** Mortalités,effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles . Afssa Agence française de sécurité sanitaire de la sécurité sanitaire des aliments.222.

## Référence bibliographique

---

- 32. CHRISTELLE L., (2007).** Dynamique d'un système hôte-parasitoïde en environnement spatialement hétérogène et lutte biologique Application au puceron aphid gossypii et au parasitoïde lysiphlebus testaceipes en serre de melons. Thèse doctorat ., Agros paris tech, Paris.p 43-44.
- 33. COWAN M., (1999).** Plant products as antimicrobial agents, Clin. Microbiol. Rev, 12 : 564-582.
- 34. CROZIER, A., CLIFFORD, M.N., ASHIHARA, H. (2006).** Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd. Thèse Présentée Par Mme Belyagoubi Née Benhammou Nabila.
- 35. CUENDET M., (1999).** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « Fagraea blumei » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : « Bartsia alpina » (Scrophulariaceae), « Loiseleuria procumbens » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat, p 24.
- 36. CYRIL, T. (2001).**étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de Catharanthus Roseusen, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. 28p.
- 37. DACOSTA E,(2003).**les phytonutriments bioactifs.Yves Dacosta (Ed).Paris, 317p.
- 38. DEINA, M., ROSA, A., CASU, V., COTTIGLIA, F., BONSIGNORE, L. (2003).** Natural product: their chemistry and biological significance. Journal of the American Oil Chemistry Society. 80:65-70.
- 39. DELPORTE. G., MASCOLO. N., IZZO. A. A., ET AL., (1999).** Life. Scien., 65(4), 337-53.
- 40. DEWAY M ., (2004).** Aphids. Ed cooperative extention ENT-20, university of delaware
- 41. DRIDI B-A-M, LAUMEREM M, HOUINULI S-I-M, JABBES N, TLAHIGS (2011).** Caractérisation phéno-morphologique de quelques lignées de fève (vicia faba L) sélectionnées et adaptées aux conditions de cultures dans les régions arides en tunisie. Africa focus. 24(1) :71-94.

## Référence bibliographique

---

- 42. EATON A. (2009).** Aphids. university of new hampshire (UNH)., cooperative Extension Entomology specialist.
- 43. FERNANDEZ S. (2006).** Pharmacologyonline., 3 :569-574 .
- 44. FIORUCCI S., (2008).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice, p 211. 130.
- 45. FORD R.A; HAWKINS D.R; MAYO B.C; API A.M., (2001).** The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. Food and Chemical Toxicology. 39 p 153-162.
- 46. GEPTS P, BEAVIS WD, BRUMMER EC, SHOAMAKER RC, STALKER HT, WEEDEN NF, YOUNG ND (2005)** legumes as a model plante Family. Genomics for food and feet report of the Cross legume advances through genomics conference . Plante physiology.137 :1228-1235.
- 47. GHESTEM A ; SEGUIN E; PARIS M; ORECCHIONI AM., (2001).** Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, Botanique-Pharmacognosie-Phytotherapie-homeopathie. Tec et Doc (Ed), p 272.
- 48. GRAVOT A.,( 2008).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.
- 49. GUERRIDAS., 2009-**Evaluation de l'activité systémique de trois végétaux et d'un insecticide sur puceron. Thèse Magister sciences agronomiques, Ecole Nationale supérieure Agronomique, Elharach, 63p
- 50. Guillén M. D., Manzanos M. J. (1998)** Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus Vulgaris* L. *plqnt. Food chemistry.* **63** (3) : 373-383.
- 51. HARBORNE JB., (1998).** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). 203-214.

## Référence bibliographique

---

**52. HAVSTEEN, B.H. (2002).** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96, 67– 202.

**53. HOFFMAN, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p

**54. HOPKINS.,( 2003).** *Physiologie végétale*, 2<sup>ème</sup> édition, Boeck, p 276-280.

**55. HUDAIB M., SPERONI E., PIETRA A. M. D., CARVIN V. (2002)** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during vegetative cycle. *J. Pharmaceutical and Biomedicinal Analysis* **29**: 691-700.

Chemical composition of the essential oil of thyme (*thmus vulgaris*) from Eastern Morocco, *Int. J. Agroc.*11 (2009) 205-208

**56. IMDORF, A ; BOGDANOV, S ; KILCHENMANN, V ; BERGER, T. (2006)** The acaricidal effect of essential oils from thyme, salvia and hyssops plants (From left to right) have been tested against *Varroa destructor*. *Alp science* , Nr. 495 . 18p.

**50. ISERIN P. (2001)** *Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres* Pp : 143 et 225-226.

**52. JALAS J.,(1971)** .Note of *Thymus* L. (*labiatae*) in Europe .L Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*, n. 64, p.p.199-215.

**53. JORDAN M.J., MARTINEEZ R.M., K.L. GOODNER, BALDWIN E.A., STOMAYOR J.A. (2006)** Seasonal Variation of *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops and products* **24**: 253-263.

**54. J-P, Yang T, San X-L, May, Redden R (2012).** Genetic diversity and relationship of global faba bean (*vicia fabal* L.) germplasm revealed by ISSR markers. *Theor Appl Genet.* 124 : 789-797.

**55. JUDD C ; KELLOGG S., (2002).** *Botanique systématique une perspective phylogénétique*, 1<sup>ère</sup> édition, Boeck, Paris.

## Référence bibliographique

---

- 56. KABOUCHE A ., KAUCHE Z.ET BRUNEAU., (2005).** Analysis of the essential oil of thymus numidicus (poiret) from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal*, n. 20, p.p.235-236.
- 57. KANSOLE M., (2009).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- KETOH G.K.1998.** utilisation des huiles essentielles des quelques plantes du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *callosobruchus maculatus* (coleoptera :bruchidae). Thèse de doctorat . Univ . Lomé . Bénin . 141 p.
- 58. KITAJIMA J., ISHIKAWA T., URABE A., SATOH M. (2004)** Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry*. **65** : 3279-3287.
- 59. KLAAS C; WAGNER G; LAUFER S; SOSA S; LOGGIA R; BOMME U; PAHL H; MERFORT I., (2002).** Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from Arnica flowers, *Planta Med.*, 68,385-391.
- 60. KRIEF, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.
- 61. KULSIC T., DRAGOVIC-UZELAC V., MILOS M. (2006)** Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* **44** (4) : 485-492.
- 62. LABRIE G. (2010).** Synthèse de la littérature scientifique sur le puceron du soya, *Aphis glycines* Matsumura. Centre de recherche sur les Grains Inc , Cérom , Québec .
- 63. LEBHAM., (2005).** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- 64. LE CONTEY, BARBANCON JM ;( 2006) :** le traité rustica de l'apiculture 2eme édition.Edition Rustica, 2006,528 pages.

## Référence bibliographique

---

- 65. LEE; A.T., PROENC, C., FERREIRA, A.R., SERRALHEIRO, M.L.M., NOGUEIRA, J.M.F., ARAUJO, M.E.M., (2003).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* **103**: 778-786
- 66. LONGAGA A.O., VERCRUYSSSE A. ET FORIERS A., (2000).** Contribution to the ethobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhea in lomola area, Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* **71** : 411-423.
- 67. LOOMIS D; CROTEAU R., (1980).** Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) *The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function* No. 4. p 364-410. Academic Press, San Francisco.
- 68. LUGASI A ; HOVARI J ; SAGI K.V ; ET BIRO L., (2003).** The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta. Biologica Szeged* **1-4**: 119-125.
- 69. MACHEIX J ; FLEURIET A ; JAY-ALLEMAND C., (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p 4-5.
- 70. MALECKY, M. (2005).** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Te ch. p 9, 13-19, 20, 27.
- 72. MAURO, N. M. (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, l'université Joseph Fourier Grenoble, p13, 16-28.
- 73. Mebarki N ., (2010)** Thèse de magistère. De chimie, Université-M'hamed bougara- boumerdes.

## Référence bibliographique

---

- 74. MEDIC SANIC M; JASPRICA I; SMOLCIC BUBALO A; ET MORNAR A. ,(2004).** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*, p 361-366.
- 75. MIDOUN, T. (2011).** Extraction Des Composés Phenoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : chimie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla. 53p.
- 76. MORALES, R. (2002)** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus. Ed. Taylor & Francis, London.* pp. 1-43.
- 77. MORIMITSU Y., YOSHIDA K., ESAKI S., HIROTA, A. (1995)** Protein glycation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris*). *Biosci. Biotechn. Biochem.* **59** : 2018-2021
- 78. NDOMO F, TAPONDJIOU A.L., TCHOUNGUEP F. M. (2009).** Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera ; bruchidae) . *Tropicultura* 27 (3) : 137-143.
- 79. NIJVELDT R. J; VAN NOOD E; VAN HOORN D. E; ERLUND. (2004).** Plantes médicinales et aromatique, *Nut. Res.* p24, 851-74.
- 80. OMULOKOLI E; KHAN B; CHHABRA S.C., (1997).** .Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 56 p 133-137.
- 81. ÖZCAN M., J.-C. CHALCHAT (2004)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* **30** (4) : 68-73.
- 82. PADILLA SB, GésarJs (2008).** Cultivos alternativos con potencial d'uso forrajero en la comarca lagunera, primera, Mexico, pp-41.
- 83. PARIENTE L. (2001)** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed. *Académie nationale de pharmacie. Paris* 1643 p.
- 84. PERONNY S., (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat, p 151

## Référence bibliographique

---

- 85. POLETTI A. (1988)** Fleurs et plantes médicinales. *2ème Ed. Delachaux & Nistlé S. A. Suisse.* Pp : 103 et 131.
- 86. POUSSET JL., (1989)** Plantes médicinales africaines. Edition Ellipses.
- 87. RACCAH B., FERERES., (2009).**plant virus Transmission by insects. Encyclopedia of life sciences, john wiley and sons, ltd
- 88. REMAUDIERE G ., REMAUDIERE M ., (1997).** Catalogue des aphidae du monde of the word's aphididae, homoptera, aphidoidea.Tech Et partie. , Ed. I.N.R.A.
- 89. RETA SANCHEZ DG, SANTOS SERRATO CORONA J, VIRAMONTESRF, CUETO WONG J A, RIBEREAU, G.P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254.
- 90. ROBAUX, P. (1986)** Varroa et varroatose. Ed. Opida. 232p
- 91. ROYER M ET HOUDE R., 2010.** Potentiel de développement lié aux extractibles : Etat des connaissances et revue des marchés. Volet2 : technologies de conversion. Université Laval, 120p
- 92. SAMMATARO, D ; FINLEY, J ; LEBLANC, B ; WARDELL, G ; AHUMADA-SEGURA, F ; J CARROLL, M. (2009).** Feeding essential oils and 2-heptanone in sugar syrup and liquid protein diets to honey bees ( *Apis meiufera L.*) as potential varroa mite (*Varroa destructor*) controls Journal of Apicu/tural Research and Bee World 48(4) : 256-262.
- 93. SELMI S.et SADOK S. (2008),** pan-American Journal of aquatie sciences. 3(1) :36-45.
- 94. STERN JL; HAGERMAN AE; STEINBERG PD; MASON P.K., (1996).** Phlorotannin-protein interactions. Journal of Chemical Ecology. 22 p 1887-1899.
- 95. TAKEUCHI H., LU Z .B et FUJITA T. (2004).** Biotechnology and biochemitry, 68(5) :1113-1134.
- 96. TAPONDJOU L.A. ADLER C., BOUDA H., FONTEM D .A, (2003)** Bioefficacité des poudre et des huiles essentielles des feuilles de chenopodium

## Référence bibliographique

---

ambrosioides et Eucalyptus saligna à l'égard de bruche du niébé, callosobruchus maculatus Fab. (Coleoptera, bruchidae). Cahies agricultures 12(6) : 401-417.

**97. THOMAS ; O.P., (2009).** Métabolisme secondaire et Biosynthèse. Master 2 VEM. Univesité Nice Sophia Antipolis.

**98. TONA L., KAMBU K., NGIMBI N., CIMANGA K. ET VLIETINCK AJ., (1998).** Antiamoebic and pythochemical screening of some congolese medicinal plants. J. Ethnopharmacol, 61 (1) :57-65.

**99. VERMERRIS W., (2006).** Phenolic compound biochemistry, Springer, Dordrecht. ISBN-10 1-4020-5163-8 (HB).

**100. WILHEM N., (1998).** Botanique générale, 10<sup>ème</sup> édition, Boek Paris.

**101. WILLIAM G.HOPKINS., CHARLES M E.,(2003).** PHYSIOLOGIE végétal ,268p.

**102. WINSTON M. ; (1993) :** the biology of honey bee. Cambridge, Massa chusetts, harvard university press.

[www.inra.fr/opie-insectes/1921agri-pp.htm](http://www.inra.fr/opie-insectes/1921agri-pp.htm).

## Référence bibliographique

---

## Référence bibliographique

---

## Résumé :

Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié une plante aromatique *Thymus vulgaris* L. récoltée de la région de Bouira, afin d'évaluer son activité insecticide à partir de l'extrait éthanolique brut vis-à-vis d'un insecte nuisible le puceron noir de la fève *Aphis fabae* et d'un insecte utile l'abeille domestique *Apis mellifera*. Trois différentes doses de l'extrait brut sont testées (0,5 - 1 - 2 et 4 mg/ml). en fonction du temps (2h, 4h, 24h, 48h, 72h et 96h). Les résultats montrent l'efficacité et la toxicité de l'extrait brut sur les pucerons. On applique les mêmes doses sur l'abeille pour voir la toxicité de l'extrait. Les résultats montrent la toxicité de l'extrait brut avec les doses 1- 2 et 4 mg/ml et aucun effet toxique avec la dose minimale (0,5mg/ml). Les différentes études phytochimiques sur divers plantes aromatique montre que ces derniers possèdent divers activités biologiques grâce à leur métabolites secondaires identifiés durant cette étude tels que : les flavonoïdes, les tannins et les glucosides.

**Mots clés :** *Thymus vulgaris* L, extrait éthanolique brut, tests phytochimiques, activité insecticide, *Aphis fabae*, *Apis mellifera*.

## Abstract:

Within the framework of this work, we studied an aromatic plant *Thymus vulgaris* L. collected in Bouira region, our work concerned the study of the insecticidal activity of this plant from preparing the extract ethanolic gross and evaluated them: Insecticidal activity on plant louses black of the broad bean *Aphid fabea*, from used various amounts of the rough extract which are respectively:0,5 - 1 2 and 4 mg/ml.According to time 2h, 4h, 24h, 48h, 72h and 96h.The results show the effectiveness and the toxicity of the rough extract on the plant louses.

One applies the same amounts to the bee to see the toxicity of the extract.The results show the toxicity of the rough extract with the amounts:1 2 and 4 mg/ml and no toxic effect with the amount minimal: 0,5mg/ml. Various phytochimic studies on various plants aromatic watch which the latter proceed various biological activities grace of their secondary metabolites like: flavonoïdes, tannins, glucosides.

**Key words:** *Thymus vulgaris*L, extracted ethanolic gross, insecticidal activity, *Aphid fabae*, *Apis will mellifera*, secondary metabolites.

## الملخص

في إطار هذا العمل تطرقنا لدراسة نبتة عطرية زعيترة المتحصل عليها من ولاية البويرة ,حيث ركزنا اهتمامنا على دراسة نشاط اساسي لهذه النبتة من خلال تحضير المستخلص الايتانولي الخام واستعماله النشاط المضاد للحشرات على الحشرة السوداء للقول والذي اظهرت نتائجه سمية المستخلص الخام و الفعالية الكبيرة في القضاء عليه من خلال استعمال اربعة تراكيز مختلفة هي على التوالي: 0,5 - 1 - 2 و 4 مغ/ملل مع تسجيل ملاحظات خلال فترات زمنية مختلفة 2 سا , 4 سا , 24 سا , 48 سا 72 سا 96 سا و طبقنا نفس التراكيز على النحلة و لاحظنا سمية المستخلص في التراكيز الثلاثة: 1- 2- 4- مغ/ملل مع عدم سمية المستخلص في التركيز الاصغر 0,5 مغ/ملل من خلال الدراسات المختلفة لعدة نباتات عطرية تبين ان سبب امتلاكها لنشاطات بيولوجية متعددة يعود الى احتوائها على المركبات الابضية الثانوية مثل: الفلافونيدات البوليفينولات الالكالويدات الكوماغينات..

الكلمات المفتاحية زعيترة ,المستخلص الايتانولي الخام,النشاط المضاد للحشرات , الحشرة السوداء للقول, النحلة الاليفة المركبات الابضية الثانوية

