

Activité Acaricide Des Huiles Essentielles Du *Mentha Pulegium*, *Origanum Compactum* Et *Thymus Capitatus* Sur L'acarien Phytophage *Tetranychus Urticae* Koch (Acari : Tetranychidae)

Asmae Bakkali Aissaoui

Amal El Amrani

Université Abdel Malek Essaadi. Faculté des Sciences et Techniques de Tanger. Département des Sciences de la Vie. Equipe de Biochimie et Biologie moléculaire. MA-Tanger (Maroc)

Said Zantar

Larbi Toukour

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Laboratoire de technologie alimentaire. MA- Tanger (Maroc)

Doi: 10.19044/esj.2018.v14n3p118 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p118](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p118)

Abstract

The use of botanical acaricides extracted from plants as an alternative to replace the chemical acaricides is an interesting and efficient option to control pests and ameliorate their toxic effects to humans and the environment. The aim of this work was to evaluate the contact toxicity of Pennyroyal *mint* (*Mentha pulegium*), oregano (*Origanum compactum*) and thyme (*Thymus capitatus*) essential oils against adults, larvae and eggs of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae). The chemical composition of these three plant essential oils was also characterized. Laboratory tests were conducted to determine the acaricidal effect of plant essential oils at several doses in geometric progression. The consequences of treatments on mortality were measured in relationships with concentrations of essential oils. On the other hand, the major constituents of the three essential oils were identified by gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) techniques. GC-MS analyses proved that the major compound present in the essential oils of thyme and oregano is carvacrol (55.59 and 55.28% respectively) while the main component of pennyroyal mint essential oil is pulegone (67,63%). Laboratory bioassay results indicated that essential oils of thyme and pennyroyal mint caused the most important acaricidal effects in comparison with the essential oil of oregano. At a concentration of 1%, thyme and pennyroyal eradicate all adults of the mite while oregano causes a mortality of

84.99%. On larvae, the mortality rate of thyme, pennyroyal and oregano is 97.7; 89.47 and 57.89% respectively. The results of the present study concluded that plant essential oils could be useful in promoting research aiming at the development of new agent for pest control from the plants with medicinal values.

Keywords: *Tetranychus urticae*- *Mentha pulegium*- *Origanum compactum*-
Thymus capitatus- essential oils

Résumé

L'usage d'acaricides botaniques extraits à partir des plantes comme alternatives aux acaricides chimiques est une option intéressante et efficace pour contrôler les ravageurs et améliorer leurs effets toxiques sur les humains et l'environnement. L'objectif de ce travail est d'évaluer la toxicité par contact des huiles essentielles de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*), de l'origan (*Origanum compactum*) et du thym (*Thymus capitatus*) sur les adultes, les larves et les œufs de l'acarien à 2 points *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae). La composition chimique des huiles essentielles de ces trois plantes a aussi été caractérisée. Les tests de laboratoire sont conduits pour déterminer l'effet acaricide des huiles essentielles à plusieurs doses en progression géométrique. Les conséquences des traitements sont évaluées en fonction des concentrations des huiles essentielles. D'autre part, les constituants majeurs des trois huiles essentielles sont identifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les analyses par GC-MS prouvent que le composé majeur des huiles essentielles de thym et d'origan est le carvacrol (55,59 et 55,28% respectivement) alors que celui de l'huile essentielle de la menthe pouliot est le pulégone (67,63%). Les résultats des bioessais de laboratoire indiquent que les huiles essentielles du thym et de la menthe pouliot causent les effets acaricides les plus importants en comparaison avec l'huile essentielle de l'origan. A une concentration de 1%, le thym et la menthe pouliot éradiquent la totalité des adultes de l'acarien alors que l'origan provoque une mortalité de 84,99%. Sur les larves, le taux de mortalité engendré par le thym, la menthe pouliot et l'origan sont respectivement 97,7 ; 89,47 et 57,89% respectivement. Les résultats de l'étude permettent de conclure que les huiles essentielles végétales pourraient être utilisées pour promouvoir la recherche visant à développer un nouvel agent, à base des plantes à vertus médicinales, pour lutter contre les ravageurs.

Mots clés : *Tetranychus urticae*- *Mentha pulegium*- *Origanum compactum*-
Thymus capitatus- huiles essentielles

Introduction

L'acarien à deux point, *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae), est un acarien ravageur présentant une large gamme de plantes hôtes. Il cause de graves dégâts sur nombreuses cultures (Takafuji et al., 2000). Les acaricides synthétiques ont été largement utilisés pour contrôler ce ravageur dans les vergers, sous serres et dans d'autres systèmes de production ce qui a conduit à l'apparition de la résistance (Van Leeuwen et al., 2006). En effet, de nombreuses espèces d'insectes et d'acariens ont développé la résistance à une ou plusieurs classes de produits phytosanitaires synthétiques (Van Leeuwen et al., 2009). Par conséquent, le nombre de produits phytosanitaires encore efficaces pour contrôler les ravageurs des plantes est entrain de décroître rapidement (Georghiou 1990). D'un autre côté, quelques produits chimiques sont connus pour leurs effets négatifs sur la santé humaine et sur l'environnement (Cavalcanti et al., 2010). Ces différents constats sont à l'origine de l'intérêt croissant que commencent à prendre les composés biopesticides à base de plantes supérieures.

Les produits naturels (comme l'azadirachtine extraite des graines du margousier (neem), la pyréthrine provenant des fleurs de pyrèthre ou la roténone extraite des racines de Derris spp.) ont été utilisés pour protéger les cultures contre l'invasion des ravageurs dans plusieurs pays. Durant les dernières années, plusieurs produits naturels et leurs dérivés ont été développés et utilisés dans la lutte contre les ravageurs des cultures, comme alternatives aux pesticides conventionnels. Certains biopesticides sont à base d'extraits des plantes (Dorman & Beasley, 1991) d'autres à base d'huiles essentielles des plantes (Rice & Coats, 1994). Les extraits et les huiles essentielles botaniques sont de plus en plus considérés comme des approches alternatives ou complémentaires aux traitements insecticides dans les stratégies de lutte intégrée. Beaucoup de ces produits végétaux montrent un large spectre d'activité contre les ravageurs des plantes.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante: cellules à l'huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiacées, des poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae. Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes. Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes (Anton & Lobstein, 2005).

Les huiles essentielles sont volatiles et contiennent de forts constituants aromatiques : les monoterpénoïdes. Les monoterpénoïdes sont reliés ou dérivent des monoterpènes, une classe de terpènes, contenant deux unités d'isoprène composées de 10 molécules de carbones. Ces composés sont des métabolites secondaires des plantes qui confèrent à la plante aromatique de nombreuses fonctions : (i) attirer ou repousser les insectes, (ii) se protéger contre les basses et fortes températures environnementales, et (iii) utiliser les constituants chimiques de la plante comme matériel de défense de la plante contre des ravageurs et les pathogènes.

Durant les dernières décennies, quelques monoterpénoïdes ont été considérés comme de bonnes alternatives aux pesticides synthétiques conventionnels pour de nombreuses raisons. D'une part, leurs constituants ont été identifiés comme étant de bon insecticides, acaricides et répulsifs aux insectes (Tong & Coats, 2010). Plusieurs monoterpénoïdes présentent une efficacité à large spectre sur les insectes et les acariens. D'autre part, les monoterpénoïdes sont relativement peu toxiques sur les vertébrés et les autres organismes non ciblés (Rice & Coats, 1994).

Les huiles essentielles et leurs constituants présentent plusieurs modes d'action: activités répulsives et anti-appétantes, inhibition de la mue et de la respiration, réduction du développement et de la fécondité, perturbation de la formation de la cuticule (Isman, 2000; Enan, 2001). De nombreux travaux ont pu montrer que les monoterpénoïdes ciblent le système nerveux central des insectes en agissant sur les canaux chlorure du récepteur de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Tong & Coat, 2010), les récepteurs de l'octopamine (Enan, 2005), les récepteurs de la tyramine (Itier & Bertrand, 2001), l'acétylcholinestérase (Badawy *et al.*, 2010) et les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) (Raymond-Delpech *et al.*, 2005).

Dans les cultures de fraise de la région du Loukkos, au nord du Maroc, les populations d'acariens ravageurs *T. urticae* sont devenues de plus en plus tolérantes aux pesticides synthétiques (Lagziri *et al.*, 2015). Ceci laisse suspecter la présence d'une résistance chez ces populations à l'égard de ces produits. Face à une telle situation, la recherche de substances naturelles d'origine botanique, à effet acaricide, serait une bonne alternative pour le contrôle des ravageurs des cultures. La flore marocaine mérite d'être explorée d'avantage. Un recensement des plantes couramment utilisées a été fait par Rejdali, (1996) et a révélé une richesse de cette flore. Le nord du Maroc, peut être considéré comme une réserve naturelle des plantes médicinales et aromatiques vu le nombre considérable des plantes qui s'y développent naturellement, telle que *Mentha pulegium*, *Lavandin*, *Mentha suaveolens*, *Nerium oleander*, *Daphne gnidium*,...etc. Une telle richesse floristique mérite d'être prospectée dans le cadre d'une lutte intégrée contre les ravageurs des cultures.

C'est dans ce contexte que s'insère le présent travail qui vise à étudier l'effet des huiles essentielles extraites à partir de plantes spontanées du nord du Maroc, réputées pour leurs propriétés acaricides et insecticides. Trois plantes aromatiques collectées dans la localité *Dar Ben Karrich* (Latitude: 35.50, Longitude: -5.42), au Nord-ouest du Maroc seront étudiées: l'origan (*Origanum compactum*), le thym (*Thymus capitatus*) et la menthe pouliot (*Mentha pulegium*). Pour comprendre l'origine du potentiel de ces plantes comme acaricide, l'huile essentielle est d'abord caractérisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). L'efficacité de doses croissantes des huiles essentielles de ces trois plantes est évaluée en calculant le taux de mortalité des femelles adultes de l'acarien ravageur *T. urticae*. Le but est de déterminer les concentrations des huiles essentielles les plus efficaces sur ce ravageur.

Materiel et methodes

Plantes et extraction des huiles essentielles

Les trois plantes aromatiques étudiées: *Mentha pulegium*, *Thymus capitatus* et *Origanum compactum* ont été récoltées le mois de mai (2014) dans la localité de *Dar Ben Karrich* (Latitude : 35.50, Longitude : -5.42), située dans la région de Tétouan, au Nord-ouest du Maroc.

Les feuilles et les tiges de chaque plante, utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, sont séchées à l'air libre et sous ombre. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par l'hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. 100g de la partie aérienne de chaque plante sont introduits dans l'appareil. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs chargées de l'huile essentielle traversent un réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile essentielle obtenue est conservée à 4° C, à l'obscurité.

Identification des constituants chimiques des huiles essentielles

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles extraites des plantes a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS). Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui possède plusieurs atouts : le chromatogramme en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange. Le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier. Pour réaliser nos spectres, nous avons utilisé le mode SCAN. L'appareil est équipé d'une colonne capillaire TR-5MS (300x0, 25µm) avec une épaisseur du film de 0,25µm. La température de la colonne est

programmée de 50°C à 240°C à raison de 5°C/min. Le volume de l'HE injecté est 1 µl avec une seringue de 10 µl et dont le solvant utilisé est l'Hexane.

L'identification des constituants de l'huile essentielle se fait par comparaison du spectre de masse de chaque pic séparé par CG à ceux disponibles sur une bibliothèque des standards. L'indice de rétention calculé pour chaque composé est comparé aux indices cités dans la littérature (Adams, 2001). Le GC/MS est relié à un système informatique gérant une bibliothèque des spectres de masse.

Collecte et maintien des acariens

Les acariens *T. urticae* sont collectés à partir de plantes infestées prélevées dans des fraisières situées à Laouamra (Latitude : 31.79, Longitude : -8.71), situé dans la région de Larache, au nord du Maroc. L'élevage des acariens est réalisé dans une salle climatisée à une température de 25°C, une humidité relative de 50 à 60% et une photopériode de 16D/8L. Les acariens sont maintenus en élevage sur des plantes d'haricot verts (*Phaseolus vulgaris* L.) et sans aucune exposition aux pesticides.

Tests toxicologiques

La méthode adoptée consiste à utiliser des feuilles d'haricot fraîches appliquées sur du papier filtre humidifié (Overmeer, 1967). La méthode appliquée est celle dite de concentration séquentielle adoptée par l'IRAC (Insecticide Resistance Action Committee, 2012) pour tester l'efficacité des produits phytosanitaires. Le principe consiste à traiter les acariens avec des préparations à base des huiles essentielles du *M. pulegium*, *T. capitatus* et *O. compactum*. Ces préparations présentent des concentrations croissantes. Les cinq concentrations croissantes suivantes sont utilisées : 0.5 ; 1 ; 2 ; 4 et 8 % pour chaque HE. Les différentes préparations sont obtenues par dilution de l'HE dans le Triton X100 à 0.1%. Les préparations obtenues sont pulvérisées sur les disques de feuille. L'application des pesticides est réalisée avec un pulvérisateur manuel (Butt & Goettel, 2000). La quantité appliquée est préalablement mesurée et elle est de 9,6±0.83 µl/cm². Les témoins sont traités de la même façon mais avec 0.1% de triton-X100. Ces témoins permettront de vérifier qu'aucune surmortalité n'était observée et de corriger la mortalité observée selon Abbott (1925).

• Sur les œufs

La méthodologie adoptée ici est celle suivie par Castagnoli et al. (2005). Cinq femelles pondueuses ont été placées en oviposition pendant 24 heures sur un disque de feuille d'haricot placé sur du papier filtre humidifié. Les femelles ont été ensuite éliminées puis chaque feuille est trempée dans une préparation à base d'une huile essentielle. Les feuilles sont, par la suite, mises en incubation sur papier filtre humidifié dans des boîtes de pétri. La

lecture des boîtes se fait cinq jours après l'éclosion du premier œuf dans les boîtes contrôles et ceux, traités seulement avec du triton-X100 à 0.1%. Ces cinq jours écoulés, on retient le nombre d'œufs morts pour une durée de 24 heures. Pour chaque huile essentielle et pour chaque concentration, cinq répétitions ont été réalisées.

• **Sur les larves**

La procédure suivie dans cette étude a été développée par Nauen et al. (2003). Des femelles pondueuses sont placées en oviposition sur des feuilles de haricot sur du papier filtre humidifié. On élimine les femelles et on laisse les œufs se développer en larves à 6 pattes (à 25°C et photopériode 16h L / 8hD pendant 5 jours). Les larves sont récupérées à l'aide de pinceaux fins puis déposées, à raison de 5 larves par boîte de pétri, sur des disques des feuilles préalablement pulvérisés avec une préparation à base de l'HE. Le dénombrement des larves mortes est effectué 24 heures après le traitement. Cinq répétitions ont été réalisées pour chaque concentration.

• **Sur les adultes**

La souche adulte de *T. urticae* est soumise à une série de bioessais de toxicité par contact. La méthode adoptée consiste à utiliser des feuilles de haricot fraîches appliquées sur du papier filtre humidifié. La feuille de haricot repose sur la face supérieure, sur la boîte de pétri (10cm) (Overmeer, 1967). Cinq femelles adultes de *T. urticae* sont déposées sur la face inférieure de chaque disque des feuilles de haricot. Des préparations à base des huiles essentielles testées sont pulvérisées sur de jeunes femelles de *T. urticae*. Pour chaque concentration, cinq répétitions ont été réalisées.

Le taux de mortalité en pourcentage est calculé après 24, 48, 72 heures.

Des préparations à base des huiles essentielles testées sont pulvérisées sur de jeunes femelles de *T. urticae*.

Analyses statistiques

Les pourcentages de mortalité sont corrigés par la formule d'Abbott (Abbott, 1925). Les traitements statistiques réalisés sont effectués grâce à des analyses de variance (ANOVA) à un ou deux facteurs : (huile essentielle, concentration d'HE, durée de traitement), suivies par le test de Tukey, permettant la comparaison des moyennes deux à deux (Dagnelie, 1975). Dans tous les cas le seuil de signification retenu est: $p < 0,05$. Les différents traitements statistiques sont réalisés à l'aide du logiciel SPSS 13.0.

Resultats

Composition chimique des huiles essentielles

Les résultats des analyses chimiques par GC-MS des huiles essentielles testées sont décrits dans la table 1.

Le nombre de composants identifiés dans la menthe pouliot, le thym et l'origan sont respectivement de 11, 10 et 9 composants (**Table 1**). Les composants majoritaires de *M. pulegium* sont le pulégone (67,63%) et l'eucarvone (13,8%). Les principales composantes de *T. capitatus* sont le carvacrol (55,59%), le γ -terpinène (14,15%) et le limonène (14,15%). Les composants majoritaires de l'*O.compactum* sont le carvacrol (55,28%), γ -terpinène (13,97%) et p-cymène (11,51%).

Table 1 : Les principaux constituants des huiles essentielles de *M. pulegium*, *T. capitatus* et *O. compactum* et leurs proportions relatives, identifiées par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS). Les tirets indiquent que le composé n'a pas été détecté. Les valeurs en gras indiquent les composés les plus abondants des huiles.

Composé	Indice de Rétention calculé	Aires moyennes des pics chromatographiques (%)		
		<i>Mentha pulegium</i>	<i>Thymus capitatus</i>	<i>Origanum compactum</i>
α -Pinène	935	-	0,56	0,53
p-Cymène	1026	-	11,23	11,51
γ -Terpinène	1031	-	14,15	13,97
Limonène	1050	1,62	14,15	-
<i>Cis</i> -Hydrate-Sabinène	1070	-	-	0,09
Linalol	1101	-	-	0,9
p-Mentha, 8 en3-one	1141	1,52	-	-
γ -Terpineol	1146	-	0,38	-
E-Caryophyllène	1151	-	2,8	-
Menthone	1153	2,16	-	-
Isomenthone	1168	0,28	-	-
Bornéol	1172	-	0,16	0,16
Pipéritone	1249	0,62	-	-
Pulégone	1254	67,63	-	-
Piperitenone	1281	0,32	-	-
Thymol	1297	-	7,61	7,8
Carvacrol	1311	-	55,59	55,28
Eucarvone	1353	13,8	-	-
Isobornéol	1425	-	0,5	-
α -Humulène	1444	-	-	2,93
β -humulène	1466	0,84	-	-
Germacrène	1471	0,63	-	-
β -bisabolène	1511	0,32	-	-
		90,74	93,45	93,17

Efficacité des trois huiles essentielles sur l'acarien *T. urticae* *Mentha pulegium*

L'HE de la menthe présente une forte toxicité très significative sur les œufs. L'analyse de la variance à un critère (Concentration) de cette HE indique une différence significative ($F_{5/23}=361$; $p<0,001$). La létalité de l'huile de la

menthe est totale pour toutes les concentrations testées sur les œufs. Aucun des œufs traités n’a pu éclore à la concentration supérieure ou égale à 0,5%.

L’analyse de variance à un facteur (concentration) révèle une différence significative de la mortalité des larves traitées par l’HE de la menthe avec ($F_{5/23}=29,671$; $p<0,001$). En effet, l’application directe des concentrations de cette huile essentielle fait passer le taux de mortalité larvaire de 68,42 %, lorsqu’elle est appliquée à 0,5 à 100%, quand celle-ci est supérieure ou égale à 4%.

Sur les adultes de *T. urticae*, l’HE de la menthe pouliot manifeste une forte toxicité. L’analyse de variance à deux facteurs a révélé une différence significative entre les cinq concentrations croissantes de l’huile de la menthe ($F_{5/72}=715,977$; $p<0,001$). Les cinq concentrations testées provoquent en moyenne des pourcentages de mortalité allant de de 96,6 à 100% (**Figure1**).

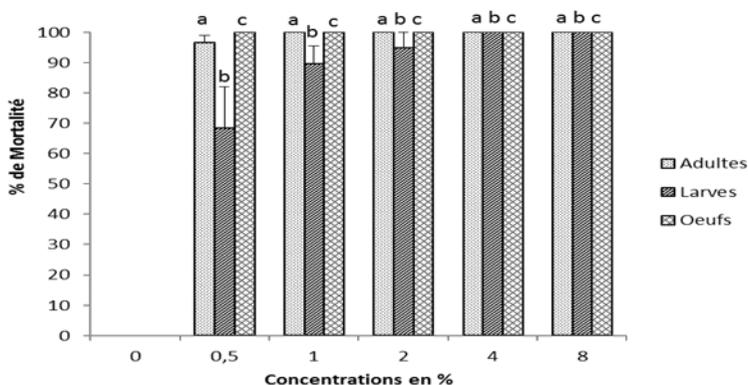


Figure 1 : Taux de mortalité des adultes, larves et œufs de *T. urticae* traités par contact avec 5 concentrations de l’huile essentielle de *M. pulegium*. Les barres représentent les moyennes \pm SE. (a,b,c) Les colonnes portant les mêmes lettres indiquent qu’il y a une différence significative dans le taux de mortalité entre le témoin et les différentes concentrations pour un même stade selon le test de Tukey HSD, $p \leq 0,05$.

Toujours chez les adultes de l’acarien jaune, la mortalité relevée ne varie pas significativement avec la durée d’exposition aux huiles essentielles de *M. pulegium* ($F_{2/72}=0.990$; $p>0,05$) (**Figure 2**).

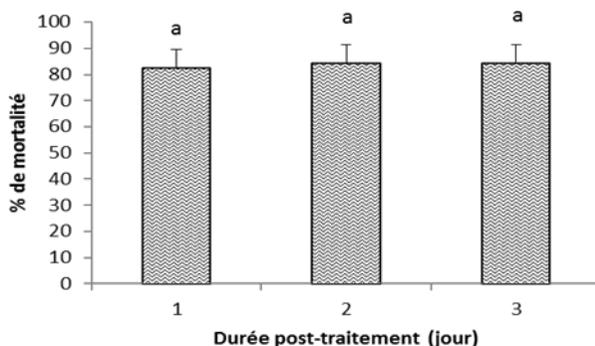


Figure 2 : Taux de mortalité des adultes de *T.urticae*, enregistrés après 24, 48 et 72 heures de l'application de l'huile essentielle du *M. Pulegium*. Les barres représentent les moyennes \pm SE. ^(a)La même lettre sur les colonnes indique qu'il n'a pas une différence significative entre les jours post-traitement selon le test de Tukey HSD, $p \leq 0,05$.

Thymus capitatus

Des taux de mortalité croissants ont été enregistrés lorsque des concentrations variant de 0,5 à 8% sont pulvérisées directement sur les œufs de l'acarien ravageur *T.urticae* ($F_{5/23}=191,6$; $p<0,001$). Au-delà d'une concentration de 2% d'huile de thym, le développement embryonnaire est complètement interrompu pour l'ensemble des œufs traités. Aucune éclosion des œufs n'est alors obtenue avec ces concentrations. Par contre, environ le tiers des œufs arrivent à éclore lorsque la concentration 0,5% de l'huile de thym est appliquée directement sur les œufs.

Chez les larves, l'analyse statistique met en évidence une différence significative entre les taux de mortalité observés lorsqu'elles sont traitées avec les cinq concentrations de l'HE du thym ($F_{5/23}=509,400$; $p<0,001$). En effet, avec 0,5% d'HE, la mortalité larvaire de l'acarien est en moyenne de 92% ; tandis qu'avec les autres concentrations, elle atteint 100% des larves traitées. Dans le lot témoin, toutes les larves ont survécu pendant la période de l'essai.

Contre les adultes, l'HE du thym montre une grande efficacité. Avec 0,5%, la mortalité enregistrée est de 95,05%. L'analyse de la variance à deux facteurs a révélé une différence significative entre les cinq concentrations de l'huile de thym ($F_{5/72}= 3513,413$; $P<0,001$). Là aussi, aucun adulte n'a déperit dans le lot témoin (**Figure 3**).

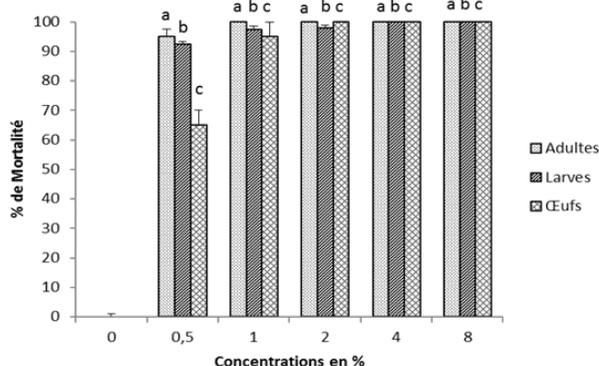


Figure 3 : Taux de mortalité des adultes, des larves et des œufs de *T. urticae* traités par contact avec 5 concentrations de l’huile essentielle du *T. capitatus*. Les barres représentent les moyennes \pm SE. ^(a,b,c) Les colonnes portant les mêmes lettres indiquent qu’il y a une différence significative dans le taux de mortalité entre le témoin et les différentes concentrations pour un même stade selon le test de Tukey HSD, $p \leq 0,05$.

D’autre part, l’analyse de la variance montre que le taux de mortalité des adultes de *T. urticae* varie d’une façon significative durant les 3 jours qui suivent le traitement à l’huile de thym ($F_{2/72}=8,728 ; = 2 ; p < 0,01$) (**Figure 4**).

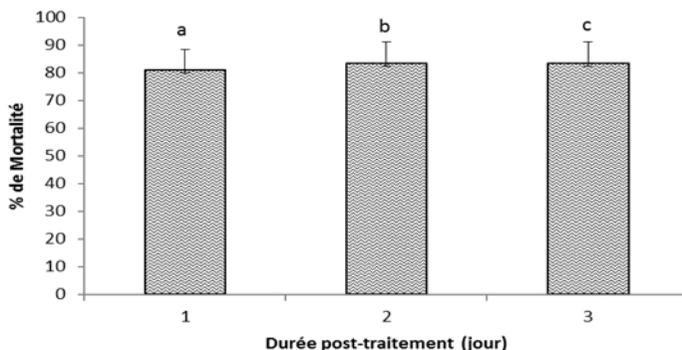


Figure 4 : Taux de mortalité des adultes de *T. urticae*, enregistrés après 24, 48 et 72 heures de l’application de l’huile essentielle du *T. Capitatus*. Les barres représentent les moyennes \pm SE. ^(a,b,c) indiquent qu’il y a une différence significative entre les jours post-traitement selon le test de Tukey HSD, $P \leq 0,05$.

Origanum compactum

L’analyse de la variance à un critère (Concentration) pour l’huile essentielle d’origan indique une différence significative ($F_{5/23}=21,259; p < 0,001$). La létalité de l’huile d’origan est totale pour toutes les concentrations testées sur les œufs.

En revanche, pour les larves, ce sont les concentrations intermédiaires ou fortes (2, 4, 8%) qui présentent l’effet larvicide le plus important sur les acariens testés. L’application de ces concentrations engendre des niveaux de

létalité forts et similaires (Test de Tukey). La mortalité par contact provoquée par ces concentrations est largement plus importante que celle provoqué par les concentrations faibles (0.5 et 1%) de cette même huile.

Lorsqu'elle est appliquée sur les adultes, l'HE d'origan engendre des taux de mortalité de 76.66, 84.99, 94.99, 100, et de 100% respectivement avec les concentrations 0.5, 1, 2, 4 et 8% ; ceci est corroborée par l'analyse statistique, l'huile de l'origan testé provoque des taux de mortalité dépendants de la concentration chez les adultes de *T.urticae* ($F_{5/72}=226,551$; $p<0,001$). Dans lot témoin, aucune mortalité n'a été observée (**Figure 5**).

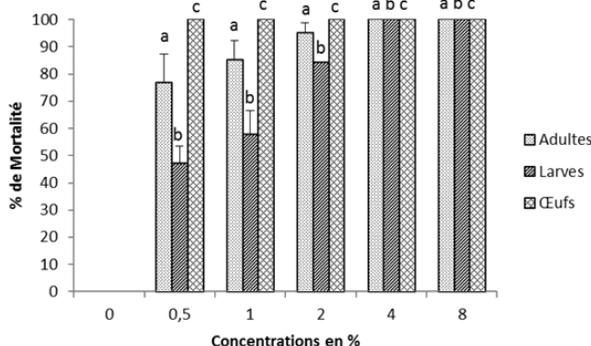


Figure 5 : Taux de mortalité des adultes, des larves et des œufs de *T. urticae* traités par contact avec 5 concentrations de l'huile essentielle de l'*O. Compactum*. Les barres représentent les moyennes \pm SE. (a,b,c) Les colonnes portant les mêmes lettres indiquent qu'il y a une différence significative dans le taux de mortalité entre le témoin et les différentes concentrations pour un même stade selon le test de Tukey HSD, $p \leq 0,05$.

D'autre part, le taux de mortalité des adultes de *T. urticae* s'amplifier significativement avec la durée d'exposition aux huiles essentielles de l'origan, il passe en moyenne de 61.33% le premier jour à 84,16% le deuxième jour après traitement ($F_{2/72}=59,430$; $p<0.001$) (**Figure 6**).

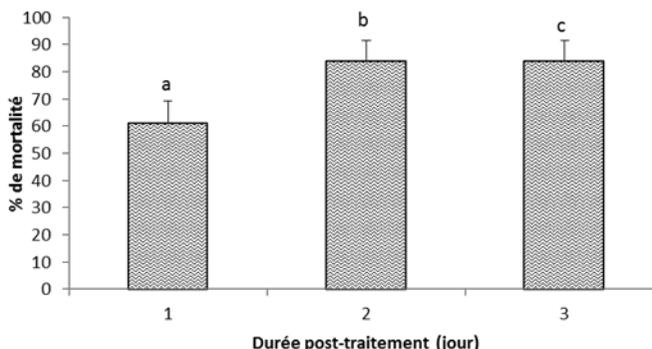


Figure 6 : Taux de mortalité des adultes de *T.urticae*, enregistrés après 24, 48 et 72 heures de l'application de l'huile essentielle de l'*O.Compactum*.

Les barres représentent les moyennes \pm SE. (a,b,c) indiquent qu'il y a une différence significative entre les jours post-traitement selon le test de Tukey HSD, $p \leq 0,05$.

Aucune mortalité n'a été observée chez les témoins, traités seulement avec 0.1% de triton-X100.

Comparaison entre la toxicité des huiles essentielles pendant les différents stades de l'acarien

La transformation des pourcentages de mortalité après un jour d'exposition en probits, et la régression de ces données en fonction du logarithme de la concentration des trois huiles essentielles, a permis de déterminer les CL₅₀ (Concentration causant la mortalité de 50% de la population de l'acarien) et CL₉₉ (Concentration causant la mortalité de 99% de la population de l'acarien) (**Table 2**).

Table 2 : CL₅₀ et CL₉₉ en % de *T.urticae* traité par les trois huiles essentielles pendant les différents stades

Espèces de plantes aromatiques	Œufs		Larves		Adultes	
	LC50	LC99	LC50	LC99	LC50	LC99
<i>Mentha pulegium</i>	0,144	12,812	0,919	11,998	0,483	12,586
<i>Thymus capitatus</i>	0,78	12,581	0,488	12,182	0,327	13,007
<i>Origanum compactum</i>	0,376	13,327	2,299	10,807	1,863	11,466

L'huile essentielle du *M. pulegium* est plus toxique sur les œufs de l'acarien, suivi par l'*O.compactum* puis *T. Capitatus*. Sur les larves et les adultes, l'HE du thym est le plus toxique suivi par la menthe puis l'origan.

Discussion

Les huiles essentielles des plantes aromatiques présentent des potentialités importantes dans le contrôle des acariens ravageurs *Tetranychus urticae* car certaines d'entre elles sont sélectives pour les ravageurs et présentent peu ou pas d'effets sur les organismes non ciblés et sur l'environnement (Saxena, 1989 ; Isman, 2000). Les huiles essentielles agissent de différentes manières sur les différents types de ravageurs. La plupart des huiles essentielles présentent des effets toxiques, répulsifs, antiappétants et stérilisants sur les arthropodes (Isman, 2000; Isman, 2006).

Le présent travail montre que les huiles essentielles extraites à partir de plantes aromatiques appartenant à la famille des Lamiacées comme la menthe pouliot, le thym, et l'origan possèdent une activité acaricide par

contact contre l'acarien ravageur *T. urticae*. Cette activité varie, toutefois, en fonction de l'espèce de plante utilisée et selon la concentration de l'huile essentielle appliquée. Sur les œufs, l'HE de la menthe pouliot est le plus toxique ($CL_{50}=0,144\%$) suivi par l'origan ($CL_{50}=0,376\%$) puis le thym ($CL_{50}=0,78\%$). L'HE du thym est le plus toxique sur les larves suivi par la menthe puis l'origan avec des CL_{50} de 0,327 ; 0,483 et 1,863% et sur les adultes avec des CL_{50} de 0,488 ; 0,919 et 2,299% respectivement.

En général, cette activité acaricide par contact s'amplifie avec l'augmentation de la concentration de l'huile utilisée. A partir d'une concentration de 4%, les HEs testées causent 100% de mortalité des trois écophases de *T. urticae* (Œufs, larves et adultes). Bien documentée dans le cas des extraits des plantes (Roh et al., 2011; Attia et al., 2011), l'activité acaricide par contact des huiles essentielle reste relativement peu étudiée.

Nos résultats montrent que les HEs du thym et de la menthe pouliot présentent les effets acaricides les plus toxiques par rapport à celles de l'origan administré à des concentrations inférieures à 2% (Cas des adultes et larves) ; alors que par fortes concentrations, l'huile essentielle de cette dernière espèce s'est avérée aussi efficace que celles du thym ou de la menthe pouliot. Les HEs des trois espèces de plantes, utilisées par fortes concentrations, se sont donc montrées capables d'éradiquer cet acarien ravageur et ce, pour tous les stades de son développement.

L'étude de la composition chimique de *M. pulegium*, collectée dans la localité de Dar Ben Karrich, au nord-ouest du Maroc, révèle la prédominance d'une cétone monoterpénique: Le pulégone (67,63%). D'autres constituants ont aussi été détectés dans l'huile de cette menthe mais à des concentrations peu importantes i.e., eucarvone (13,8%), menthone (2,16%), limonène (1,62%) et p-mentha, 8 en-3-one (1,52%). Dans la littérature, de nombreux travaux ont aussi trouvé que l'huile essentielle de la menthe pouliot contient le pulégone comme principal constituant, avec un pourcentage variant de 25 à 92% (e.g., Rodrigues, 2013). Le pourcentage de pulégone peut même atteindre les 99% dans certains pays (Rim & Jee, 2006). Pavlidou et al., (2004) ont montré la sensibilité des larves de la mouche de l'olivier *Bactrocera oleae* et celle de *Drosophila melanogaster* au pulégone. De même, Franzios et al., (1997) ont aussi rapporté que le pulégone est significativement plus efficace (9 fois) comme insecticide, tandis que le menthone et le carvone sont moins efficaces (6 et 2 fois, respectivement).

Le constituant principal du *T. capitatus* est le carvacrol, un phénol monoterpénique (55,59%), suivi de α -terpinène (14,15%), du limonène (14,15%) et du p-cymène (11,51%). Des observations similaires ont été faites par El Ajourri et al., (2008) qui ont montré que l'huile essentielle de *T. capitatus* collecté dans la localité de Boufekrane, au centre du Maroc, est composée principalement par le carvacrol avec un taux de 70,92%. Dans

d'autres pays du pourtour méditerranéen, la composition de *T. capitatus* est globalement similaire à celle trouvée au Maroc. Le carvacrol représente, en effet, 86% des HE de *T. capitatus* en Italie (Ruberto et al., 1992), 80% en Grèce (Karpouhtsis et al., 1998) et un taux variable entre (62-83%) en Tunisie (Bounatirou et al., 2007). D'une manière générale, les études de la composition chimique des huiles essentielles de *T. capitatus* dans son aire de répartition dans le monde montre que c'est une essence à carvacrol, dont la teneur varie selon le site de récolte.

Nos résultats montrent que le carvacrol est aussi le constituant majeur de l'*O. Compactum* (55,28%) suivi de γ -terpinène (13,97%) et p-cymène (11,51%). Dans d'autres échantillons marocains de l'huile essentielle d'*O. compactum*, Benjilali et al., (1986) ont trouvé que la teneur en carvacrol varie entre 36.6 à 76.6%. La prédominance du carvacrol dans *O. compactum* a été confirmée par de nombreux travaux dans plusieurs pays (Nhu-Trang et al., 2006).

Les tests toxicologiques, réalisés dans le présent travail, mettent en évidence le haut niveau de toxicité de l'HE du *M. pulegium*, lorsqu'elle est appliquée par contact. L'activité acaricide de cette plante, a été aussi notée par de nombreux auteurs, et ce, aussi bien au laboratoire qu'en plein champ (Choi et al., 2004 ; Attia et al., 2011) ; ces derniers auteurs ont, en effet, montré que les extraits de *M. pulegium* peuvent provoquer 91% de mortalité de *T. urticae*, lorsqu'ils sont appliqués par contact en plein champ. Par fumigation, les huiles essentielles de la menthe pouliot a également été relevée chez *T. urticae* et ce, même à faible concentration (19 μ l/l d'air) (Choi et al., 2004) ; selon ces auteurs, les vapeurs de cette huile essentielle sont capables d'éradiquer la totalité des œufs et adultes de *T. urticae* traités.

Par ailleurs, l'activité insecticide/ acaricide de plusieurs espèces du genre *Thymus* a été bien documentée dans la littérature (Choi et al., 2004 ; Aslan et al., 2004). En revanche, peu de travaux ont porté sur l'effet acaricide /insecticide de l'espèce de thym *T. capitatus*. Le présent travail montre l'efficacité de l'huile essentielle de cette plante, lorsqu'elle est appliquée par contact sur différents stades de *T. urticae*. Dans la littérature, les quelques travaux qui ont été réalisés sur *T. capitatus* ont essentiellement porté sur l'effet acaricide/insecticide des extraits aqueux de *T. capitatus*. Selon Al Alawi (2014), les extraits aqueux de *T. capitatus* sont peu nocifs pour les adultes de *T. urticae*. Une faible efficacité des extraits aqueux de *T. capitatus* a aussi été notée par Pavela (2008) chez le moustique *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). En revanche, l'effet acaricide/insecticide d'autres espèces de *Thymus*, en l'occurrence *T. vulgaris*, a largement été étudié. Selon El-Gengaihi et al., (1996) l'application de fortes concentrations de l'huile essentielle de cette plante peut provoquer 100% de mortalité chez *T. urticae*. Une forte toxicité des huiles essentielles de *T. vulgaris* a aussi été observée

chez les adultes de *T. urticae* traités par fumigation (Choi et al., 2004 ; Aslan et al., 2004) ou par contact (Pavela, 2016). Contre la mouche blanche, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), l'huile de *T. vulgaris* s'est montrée très efficace par fumigation (Aslan et al., 2004).

Nos résultats montrent que, si la toxicité des huiles essentielles de l'origan, utilisées à de faibles concentrations sur les adultes et les larves est inférieure à celle des 2 autres huiles essentielles testées, son efficacité devient maximale lorsqu'elle est appliquée à des concentrations fortes. Pavela et al. (2016) ont aussi mis en évidence l'effet acaricide des huiles essentielles d'*O. compactum* appliquées par fumigation sur les adultes de *T. urticae*. L'effet acaricide/insecticide d'autres espèces d'origan a aussi été observé par plusieurs auteurs, l'huile essentielle d'*O. syriacum* s'est montrée efficace par fumigation sur *T. cinnabarinus* (Tunç & Sahinkaya, 1998). Les extraits aqueux d'*O. majorana* se sont aussi révélés efficaces contre *T. urticae* (Pavela, 2016) ; selon cet auteur, l'incidence de l'infestation des plantes est nulle lorsqu'elles sont traitées avec l'origan.

Les effets acaricides/insecticides des huiles essentielles des plantes dépendent de leur composition chimique (Pascual-Villalobus & Ballesta-Acosta, 2003). Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes pouvant contenir de nombreux constituants à des concentrations différentes. Ils sont caractérisés par un ou 2 composants, considérés comme majeurs en comparaison avec d'autres composants, présents sous forme de traces dans les huiles essentielles (Bakkali et al., 2008). Les composants des huiles essentielles englobent 2 groupes d'origines biosynthétiques différentes (Betts, 2001). Le principal groupe est constitué de terpènes et de terpénoïdes dont notamment les monoterpénoïdes. Le second groupe contient des constituants aromatiques et aliphatiques (Bakkali et al., 2008).

Le constituant majoritaire trouvé dans les huiles essentielles de thym et d'origan est donc le carvacrol. Selon Koschier, (2008), ce composé présente une activité importante contre plusieurs insectes, acariens et phytopathogènes. La présence de ce même composé dans le thym et l'origan laisserait penser que les huiles essentielles de ces deux plantes auraient le même niveau d'efficacité sur *T. urticae*. Or, l'espèce de thym *T. capitatus* serait, d'après nos résultats, plus efficace que l'origan, du moins lorsque son huile essentielle est appliquée par contact à des concentrations inférieures à 2%. Une telle différence entre les huiles essentielles pourrait se justifier par la présence de composés minoritaires à côté du composé majoritaire, ici, le carvacrol. L'effet des composés minoritaires a été bien mis en évidence dans la littérature. Jiang et al., (2009) indiquent que les constituants inactifs de *Litsea pungens* Hemsl. et *L. cubeba* (Lour.) Pers. (Lauraceae) ont quelques effets synergétiques sur les constituants actifs et ce, bien qu'individuellement inactifs. Leur présence est nécessaire pour atteindre l'efficacité totale contre les larves de *Trichoplusia*

ni (Lepidoptera: Noctuidae). De même, Miresmailli *et al.*, (2006) ont montré une activité acaricide importante de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. et des mélanges à base des constituants de cette huile sur *T. urticae*. Selon ces auteurs, un effet synergique existe entre les constituants actifs et non actifs de cette huile. D'après Bakkali *et al.*, (2008), l'effet biologique des huiles essentielles peut être dû au synergisme de toutes les molécules ou refléter seulement les effets des principales molécules présentes à de hauts niveaux selon l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Généralement, les composants majeurs reflètent les fonctions biophysiques et biologiques des huiles essentielles d'où elles sont extraites (Ipek *et al.*, 2005). Toutefois, il est possible que l'activité des composants principaux soit modulée par d'autres molécules mineures (Hoet *et al.*, 2006).

Le mode d'action exact des huiles essentielles et de leurs composants reste peu connu en comparaison avec celui des pesticides synthétique (Isman, 2006). La toxicité rapide des huiles essentielles et leurs monoterpènes sur les insectes et les autres arthropodes laissent suggérer un mode d'action neurotoxique (Isman, 2006). Les récepteurs de l'octopamine sont considérés comme étant le site d'action de quelques monoterpénoïdes dont le carvacrol et le pulégone, utilisés dans le contrôle de la blatte américaine *Periplaneta americana* (Enan, 2001) et de la mouche domestique *Musca domestica* (Enan, 2005). Le même auteur a montré que les monoterpénoïdes empoisonnent les insectes en bloquant les récepteurs de l'octopamine (Enan, 2001; 2005).

Selon Tong & Coat, (2010), le carvacrol et le pulégone, sont aussi des modulateurs positifs du récepteur GABA chez la blatte américaine et la mouche domestique. Ils se lient aux récepteurs GABA associés avec les canaux Cl⁻ situés sur la membrane des neurones post-synaptiques et perturbe, de ce fait, le fonctionnement des synapses GABA, causant ainsi des effets inhibiteurs sur le système nerveux ces insectes.

Le carvacrol a aussi montré des effets modulateurs sur le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) chez la mouche domestique (Tong *et al.*, 2013). Selon ces derniers auteurs, la liaison du carvacrol au nAChR peut causer un effet inhibiteur sur le système nerveux des insectes. Dans leur globalité, ces études confirment que l'activité des monoterpènes contenus dans les huiles essentielles est due à de nombreux mécanismes qui affectent de nombreuses cibles perturbant ainsi l'activité cellulaire et les processus biologiques des arthropodes.

Conclusion

Les huiles essentielles, testées ici, sont prometteuses dans l'usage possible contre l'acarien ravageur du fraisier *T. urticae*, vu qu'elles peuvent engendrer une forte mortalité chez ce ravageur et pendant tous les stades de son développement, tout en étant des produits naturels à faible effet sur

l'environnement. Les huiles essentielles peuvent, de ce fait, être suggérées comme des alternatives potentielles aux pesticides synthétiques conventionnels pour pallier les problèmes environnementaux et de santé générés par l'usage intensif de ces produits chimiques. D'autres études sont, toutefois, nécessaires pour évaluer le mode d'action des huiles essentielles et leur impact sur la faune auxiliaire utile.

References:

1. Abbott W.S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, pp.265-267.
2. Adams, R.P. (2001). Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. *Allured Publishing Corporation*, Illinois, USA.
3. Al-Alawi M.S.(2014). Acaricidal activity of medicinal plants against the developmental stages of the two spotted mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Agricultural Research*, 9, pp.38-46.
4. Anton R. & Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec & Doc*, Paris (France), 522 p.
5. Aslan I., Ozbek H., Calmasur O. & Sahin F. (2004). Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Ind. Crop Prod.*, 19, pp.167–173.
6. Attia S., Grissa K.L., Ghrabi Z., Mailleux A.C., Logany G. & Hance T. (2011). Acaricidal activity of 31 essential oils extracted from plants collected in Tunisia. *J. Essent. Oil Res.*, 24, pp.279-288.
7. Badawy Mohamed E. I. , El-Arami Sailan A. A. & Abdelgaleil Samir A. (2010). M. Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Experimental & applied acarology*, 52, pp.261-274.
8. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential Oils- A review. *Food Chem. Toxicol.*, 46, pp.446–475.
9. Benjilali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaïli-Alaoui M, Ayadi A. (1986). Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant Medicinal Phytotherapy*, 20, pp.155-167.
10. Betts T.J. (2001). Chemical characterisation of the different types of volatile oil constituents by various solute retention ratios with the use of conventional and novel commercial gas chromatographic stationary phases. *J. Chromatogr.*, 936, pp.33–46.
11. Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G. & Pedro L.G. (2007).

- Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chem.*, 105, pp.146-155.
12. Butt T. M. & Goettel M.S. (2000). Bioassays of entomogenous fungi. In: Navon, A., Ascher, K. R. S. (Eds), *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, pp.141-195.
 13. Castagnoli M., Liguori M., Simoni S & Duso C. (2005). Toxicity of some insecticides to *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus californicus* and *Tydeus californicus*. *Biocontrol*, 50, pp.611–622.
 14. Cavalcanti S.C.H., Niculau Edos S., Blank A.F., Câmara C.A., Araújo I.N. & Alves, P.B. (2010). Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Bioresource Technology*, 101, pp.829–832.
 15. Choi W.I., Lee S.G., Park H.M. & Ahn Y.J. (2004). Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.*, 97, pp.553–558.
 16. Dagnelie P. 1975. Analyse statistique à plusieurs variables, Les presses Agronomiques de Gembloux, 362 p.
 17. Dorman D. C. & Beasley V. R. (1991). Neurotoxicity of pyrethrin and pyrethroid insecticides. *Vet. Hum. Toxicol.*, 33, pp.238–243.
 18. El Ajjouri M., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Rahouti M., Amarti F. & Aberchane M. (2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 12, pp.345-351.
 19. El-Gengaihi S.E., Amer S.A.A. & Mohamed S.M. (1996). Biological activity of thyme and thymol against *Tetranychus urticae* Koch. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 69, pp.157-159.
 20. Enan E. E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp. Biochem. Physiol- Part C: Toxicol. Pharmacol.*, 130, pp.325-37.
 21. Enan E. E. (2005). Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 35, pp.309-21.
 22. Franzios G., Mirotsoy M., Hatzi Apostolou E., Karl J., Scouras Z. G. & Mavargani-Tsapidou P. (1997). Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 45, pp. 2690-2694.

23. Georghiou G. P. (1990). Overview of insecticide resistance. *ACS Symposium Series American Chemical Society*, 421, 18–41.
24. Hoet S., Stevigny C., Herent M.F. & Quetin-Leclercq J. (2006). Antitrypanosomal compounds from leaf essential oil of *Strychnos spinosa*. *Planta Med.*, 72, pp.480–482.
25. Isman M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, 19, pp.603-608.
26. Isman M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol.*, 51, pp.45–66.
27. Itier V. & Bertrand D. (2001). Neuronal nicotinic receptors: from protein structure to function. *FEBS Lett.*, 504, pp.118–125.
28. Ipek E., Zeytinoglu H., Okay S., Tuylu B.A., Kurkcuoglu M. & Husnu Can Baser K. (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chem.*, 93, pp.551–556.
29. Jiang Z., Akhtar Y., Bradbury R., Zhang X. & Isman B.M.. (2009). Comparative toxicity of essential oils of *Litsea pungens* and *Litsea cubeba* and blends of their major constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, pp.4833-4837.
30. Karpouhtsis I., Pardali E., Feggou E., Kokkini S., Scouras Z.G. & Mavragani-Tsipidou P. (1998). Insecticidal and genotoxic activities of Oregano essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 46, pp.1111–1115.
31. Koschier E. H. (2008). Essential oil compounds for thrips control - A review. *Nat. Prod. Commun.*, 3, pp.1171-1182.
32. Lagziri, M., Benicha M., M'rabet R. & El Amrani A. (2015). Influence de l'usage préventif des pesticides sur les acariens *Tetranychus urticae* et *Phytoseiulus persimilis* (Acari : Tetranychidae, Phytoseiidae) présents en cultures de fraisières du Nord du Maroc. *Biotechnologies Agronomie Société Environnement*, 19, pp.355-363.
33. Miresmailli S., Bradbury R. & Isman M.B. (2006). Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Manag. Sci.*, 62, pp.366–371.
34. Nauen R., Ebbinghaus-Kintscher U., Salgado V.L & Kausmann M. (2003). Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 76, pp.55–69.
35. Nhu-Trang T., Casabianca H. & Grenier-Loustalot M. F. (2006). Deuterium/hydrogen ratio analysis of thymol, carvacrol, γ -terpinene

- and p-cymene in thyme, savory and oregano essential oils by gas chromatography– pyrolysis–isotope ratio mass spectrometry. *J. Chromat. A*, 1132, pp.219–227.
36. Overmeer W.P.J. (1967). Genetics of resistance to tedian in *Tetranychus urticae* (Koch) Arch. Neerl. Zol. 17, pp.296-349.
 37. Pascual-Villalobos, M.J. & Ballesta-Acosta, M.C. (2003). Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, pp.673-679.
 38. Pavela R. (2008). Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 102, pp.555–559.
 39. Pavela R. (2016). Acaricidal Properties of Extracts of Some Medicinal and Culinary Plants against *Tetranychus urticae* Koch. *Plant Protect. Sci.*, 52, pp.54–63.
 40. Pavela R., Stepanycheva E., Shchenikova A., Chermenskaya T. & Petrova M. (2016). Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch. *Industrial Crops and Products*, 94, pp.755–761.
 41. Pavlidou V., Franzios G., Karpouhtsis I., Zambetaki A., Zacharias Scouras G. & Penelope Mavragani-Tsipidou. (2004). Insecticidal and genotoxic effects of essential oils of Greek sage, *Salvia fruticosa*, and mint, *Mentha pulegium*, on *Drosophila melanogaster* and *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *J Agric Urban Entomol*, 21(1), pp.39–49.
 42. Raymond-Delpech V., Matsuda K., Sattelle B. M., Rauh J. J. & Sattelle D. B. (2005). Ion channels: molecular targets of neuroactive insecticides. *Invert. Neurosci.*, 5, pp.119-33.
 43. Rejdali M. (1996). La flore du Maroc: Etat actuel et perspectives de conservation. Diversité biologique et valorisation des plantes médicinales. Actes éd., pp.17-22.
 44. Rice P. J. & Coats J. R. (1994). Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.*, 87, pp.1172-1179.
 45. Rim I. S. & Jee C. H. (2006). Acaricidal effects of herb essential oils against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). *Korean J. Parasitol.*, 44, pp.133–138.
 46. Rodrigues L. (2013). Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of cultivated and wild growing *Mentha pulegium* L. populations from Portugal. *Industrial Crops and Products*, 43, pp.692–700.

47. Roh H.S., Lim E. G., Kim J. & Park C. G. (2011). Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *J. Pest. Sci.*, 84, pp.495-501.
48. Ruberto G., Biondi D. & Piattelli M. (1992). The essential oil of Sicilian *Thymus capitatus*. *Journal of Essential oil Research*, 4, pp.417-418.
49. Saxena, B. P. (1989). Insecticides from neem. In *J.T. Arnason, B.J.R. Philogene and P. Morand (eds) Insecticides of Plant Origin. American Chemical Society Symposium series 387*, pp.110-135.
50. Takafuji A., Ozawa A., Nemoto H. & Gotoh T. (2000). Spider mites of Japan: their ecology and control. *Experimental and Applied Acarology*, 24, pp.319–335.
51. Tong F. & Coats J. (2010). Effects of monoterpene insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and ³⁶Cl- uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 98, pp.317-324.
52. Tong F., Gross A. D., Dolanc M. C. & Coats J. R. (2013). The Phenolic Monoterpene Carvacrol Inhibits the Binding of Nicotine to the Housefly Nicotinic Acetylcholine Receptor. *Pest Manag Sci.*, 69, pp.775–780.
53. Tunç I. & Şahinkaya S. (1998). Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86, pp.183-187.
54. Van Leeuwen T., Tirry L. & Nauen R. (2006). Complete maternal inheritance of bifenthrin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its implications in mode of action considerations. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 36, pp.869-877.
55. Van Leeuwen T., Vontas J., Tsagkarakou A. & Tirry L. (2009). Mechanisms of acaricide resistance in the two spotted spider mite *Tetranychus urticae*. In: *Ishaaya I., Horowitz A.R. (Eds.), Biorational Control of Arthropod Pests. Springer, The Netherlands*, pp.347-393.