الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POI
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMERI TIZI-OUZOU

Mémoire en vue d'obtention d'un diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie.

Filière : Ecologie et environnement.

Spécialité : Ecologie Animale.

Intitulé

Effet biopesticide de L'huile essentielle de la Menthe poivrée (*Mentha peperita*) sur les vers de terre

Présenté par : IDIRI Lila

HEROUI Cylia

Soutenu : Le 04/06/2025

Devant le jury composé de ` :

Président :	**Mr MEZANI Samir**	**MCA (UMMTO)**
Promotrice :	**Dr BENMMANSOUR Nadia**	**MCA (UMMTO)**
Examinateur :	**Mr SADOU Sid Ali**	**MCB (UMMTO)**

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Tout d'abord, nous tenons à adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadrante, Madame le Docteur Bemmansour Nadia. Son accompagnement tout au long de ce travail a été inestimable. Sa disponibilité, sa rigueur et ses conseils éclairés nous ont apporté un soutien précieux à chaque étape de ce projet. Grâce à son exigence bienveillante, nous avons pu approfondir nos réflexions et dépasser nos propres limites. Nous lui sommes également reconnaissants pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour ses remarques toujours constructives et pour l'attention particulière qu'elle a portée à la qualité de notre travail. Travailler sous sa direction a été une véritable opportunité d'apprentissage et d'enrichissement personnel.

Nous souhaitons également adresser nos remerciements aux membres du jury, monsieur Mezani et Monsieur Sadou, qui ont eu l'amabilité de participer à l'évaluation de notre travail. Leur présence, leur écoute attentive et la qualité de leurs remarques témoignent de leur engagement et de leur volonté de contribuer à notre parcours académique et professionnel. Nous apprécions particulièrement l'intérêt qu'ils ont porté à notre sujet ainsi que la pertinence de leurs questions, qui nous ont permis de prendre du recul et d'approfondir certaines dimensions de notre réflexion. Leur regard critique, à la fois exigeant et bienveillant, constitue pour nous une source précieuse d'enrichissement.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude envers le Dr Louadj pour son accompagnement au sein de son laboratoire de pharmacognosie, ainsi que le Dr Yamani pour son soutien dans son laboratoire de toxicologie.

Nous souhaitons enfin exprimer notre gratitude à Madame Hawchine pour nous avoir permis d'accéder au laboratoire afin de réaliser nos expériences.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, d'une manière ou d'une autre, à la réussite de ce travail

Dédicace

Je dédié ce modeste travail à ma grande Famille, mes chers parents, mes Frères, et a toute la famille.

À mes chers parents,

Pour votre amour inconditionnel, votre soutien constant et vos sacrifices silencieux. Merci de m'avoir toujours encouragé à croire en moi et à aller au bout de mes rêves. Ce travail est aussi le fruit de votre présence et de votre confiance.

A mes frère Rayan et Mahieddine.

Mon cher ami Hakim,

Merci pour ta présence, tes rires, ton écoute. Tu es un rayon de soleil dans ma vie, Et cette dédicace est pour te dire combien tu comptes pour moi.

A tous mes amies d'études.

A tous les enseignants, et collègues de Master 2, écologie animale 2025.

Heroui Cylia.

Je Dédie ce modeste travail a :

A mes très chers parents,

Merci pour votre amour, vos encouragements et tous les sacrifices que vous avez faits pour moi. Je me souviens de chaque moment où vous avez cru en moi, même quand moi je doutais. C'est grâce à vous que je suis là aujourd'hui. Je vous aime profondément.

À mon mari,

Merci pour ton soutien, ta patience et ton amour tout au long de cette aventure. Ta présence m'a donné la force d'aller jusqu'au bout. Ce mémoire est aussi le fruit de ton encouragement de chaque jour.

A mes chères sœurs (Fadhila, imene, samira).

A ma belle-mère fatma.

A tous mes proches.

A tous mes amis et tous ceux qui me sont chers.

Idiri lila.

Résumé :

La présente étude vise à évaluer l'effet insecticide de l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita*) sur les vers de terre, en tant qu'alternative potentielle aux pesticides chimiques, souvent reconnus pour leur impact négatif sur l'environnement et la santé humaine.

L'efficacité de l'huile essentielle de menthe poivrée a été testée à diverses concentrations (0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2,5 %, 4,5 %, 5 % et 7 %) et à différents temps d'exposition (24, 48 et 72 heures). Les vers de terre ont été soumis à ces traitements en conditions contrôlées. Les taux de mortalité ainsi que les comportements des vers ont été observés et enregistrés après chaque période d'exposition. Les données recueillies ont été analysées à l'aide du logiciel Excel 2007 pour évaluer l'impact des différentes concentrations sur la survie des vers.

Les résultats indiquent une absence de mortalité à des concentrations de 0 %, 0,5 % et 1 %. Les concentrations de 1,5 % et 2,5 % ont révélé une toxicité minimale. À 4,5 %, des signes de stress ont été observés, bien que la mortalité demeure faible. À 5 %, le taux de mortalité atteint 30 % après 48 heures, tandis qu'à 7 %, toutes les unités expérimentales de vers étaient décédées, indiquant une toxicité maximale. Le dosage létal 50 (DL50) a été estimé à environ 5,29 %, ce qui signifie qu'une concentration de 5,29 % est nécessaire pour induire une mortalité de 50 % des vers. Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,539$) indique que 53,9 % de la variation du taux de mortalité est expliquée par la concentration, suggérant l'existence d'autres facteurs influents.

Les résultats statistiques d'ANOVA montrent que la concentration exerce un effet hautement significatif sur la mortalité (p value = 0 .0202), traduisant une relation dose dépendante. En revanche, le temps d'exposition seul na pas d'impact statistiquement significatif (p value = 0.1144). Ainsi pour les deux durées testées (24h et 48h), La mortalité observée ne varie pas de façon substantielle.

Les résultats suggèrent qu'une concentration inférieure à 2,5 % pourrait favoriser la survie des vers de terre tout en agissant comme un biopesticide efficace. L'huile essentielle de menthe poivrée présente un potentiel pour protéger les vers de terre et promouvoir une agriculture durable. Néanmoins, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer les mécanismes d'action de l'huile essentielle, sa compatibilité avec d'autres pratiques agricoles, ainsi que son interaction avec les autres organismes vivants du sol. Une meilleure compréhension de ces facteurs pourrait contribuer à l'élaboration de méthodes de culture plus respectueuses de l'environnement.

Mots clés : **Huile essentielle** ; **Menthe poivrée** ; **Insecticide** ; **Vers de terre** ; **Toxici**

Abstract:

The present study aims to evaluate the insecticidal effect of peppermint essential oil (Mentha piperita) on earthworms as a potential alternative to chemical pesticides, which are often recognized for their negative impact on the environment and human health. The effectiveness of peppermint essential oil was tested at various concentrations (0%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2.5%, 4.5%, 5%, and 7%) and at different exposure times (24, 48, and 72 hours). The earthworms were subjected to these treatments under controlled conditions. Mortality rates and the behavior of the worms were observed and recorded after each exposure period. The collected data were analyzed using Excel 2007 to evaluate the impact of different concentrations on the survival of the worms.

The results indicate no mortality at concentrations of 0%, 0.5%, and 1%. Concentrations of 1.5% and 2.5% revealed minimal toxicity. At 4.5%, signs of stress were observed, although mortality remained low. At 5%, the mortality rate reached 30% after 48 hours, while at 7%, all experimental units of worms had died, indicating maximum toxicity. The lethal dose 50 (LD50) was estimated to be approximately 5.29%, meaning that a concentration of 5.29% is required to induce 50% mortality in the worms. The coefficient of determination ($R^2 = 0.539$) indicates that 53.9% of the variation in mortality rate is explained by concentration, suggesting the existence of other influencing factors.

The statistical results of ANOVA show that concentration has a highly significant effect on mortality (p value = 0.0202), reflecting a dose-dependent relationship. In contrast, exposure time alone has no statistically significant impact (p value = 0.1144). Thus, for both durations tested (24h and 48h), the observed mortality does not vary substantially.

The results suggest that a concentration below 2.5% could favor the survival of earthworms while acting as an effective biopesticide. Peppermint essential oil shows potential to protect earthworms and promote sustainable agriculture. Nevertheless, further research is needed to explore the mechanisms of action of the essential oil, its compatibility with other agricultural practices, as well as its interaction with other living organisms in the soil. A better understanding of these factors could contribute to the development of more environmentally friendly cultivation methods.

Keywords: Essential oil; Peppermint; Insecticide; Earthworms; Toxicity act.

الملخص:
تسعى هذه الدراسة إلى تقييم تأثير زيت النعناع العطري (*Mentha piperita*) كمبيد حشري على الديدان الأرضية، كبديل محتمل للمبيدات الكيميائية، التي غالبًا ما تُعرف بتأثيرها السلبي على البيئة وصحة الإنسان. تم اختبار فعالية زيت النعناع العطري بتراكيز مختلفة (0%، 0.5%، 1%، 1.5%، 2.5%، 4.5%، 5% و7%) وأوقات تعرض مختلفة (24، 48 و72 ساعة). تم تعريض الديدان الأرضية لهذه المعالجات في ظروف مُتحكم فيها. تم ملاحظة وتسجيل معدلات الوفيات وسلوك الديدان بعد كل فترة تعرض. تم تحليل البيانات المُجمعة باستخدام برنامج Excel 2007 لتقييم تأثير التراكيز المختلفة على بقاء الديدان.

تشير النتائج إلى عدم وجود وفيات عند التراكيز 0%، 0.5% و1%. أظهرت التراكيز 1.5% و2.5% سمية طفيفة. عند 4.5%، تم ملاحظة علامات توتر، رغم أن معدل الوفيات ظل منخفضًا. عند 5%، بلغ معدل الوفيات 30% بعد 48 ساعة، بينما عند 7%، كانت جميع الوحدات التجريبية من الديدان قد توفيت، مما يدل على سمية قصوى. تم تقدير الجرعة المميتة 50 (DL50) بحوالي 5.29%، مما يعني أن تركيز 5.29% ضروري لتحقيق معدل وفيات 50% من الديدان. يشير معامل التحديد ($R^2 = 0.539$) إلى أن 53.9% من التغير في معدل الوفيات يفسره التركيز، مما يقترح وجود عوامل مؤثرة أخرى.

تظهر نتائج تحليل التباين (ANOVA) أن التركيز له تأثير ذو دلالة إحصائية عالية على الوفيات($p\text{-value} = 0.0202$) ، مما يعكس علاقة تعتمد على الجرعة. من ناحية أخرى، لم يكن لوقت التعرض بمفرده تأثير ذو دلالة إحصائية .($p\text{-value} = 0.1144$) وبالتالي، بالنسبة للفترتين المُختبرتين (24 ساعة و48 ساعة)، لم يتغير معدل الوفيات بشكل ملحوظ.

تقترح النتائج أن تركيزًا أقل من 2.5% قد يعزز بقاء الديدان الأرضية ويعمل كمبيد حشري طبيعي فعال. يُظهر زيت النعناع العطري إمكانات لحماية الديدان الأرضية وتعزيز الزراعة المستدامة. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من الأبحاث لاستكشاف آليات عمل الزيت العطري، وتوافقه مع ممارسات زراعية أخرى، وكذلك تفاعله مع الكائنات الحية الأخرى في التربة. يمكن أن تسهم فهم أفضل لهذه العوامل في تطوير طرق زراعة أكثر احترامًا للبيئة.

الكلمات المفتاحية:
زيت عطري؛ نعناع؛ مبيد حشري؛ ديدان أرضية؛ سمية

Table des matières

Introduction : **1**
Chapitre 1 : Présentation des huiles essentielles et l'espèce étudié (*mentha Pepirita*)
1. Présentation des Huiles Essentielles : **3**
1.2 Définition : **3**
1.3 Localisation des Huiles Essentielles dans la plante : **4**
2. Appareils sécréteurs d'huiles essentielles dans les plantes : **5**
(Garneau, 2005) 7
Avantages des Huiles Essentielles comme insecticide :7
4. Méthodes d'extraction : **7**
1. Présentation de la menthe poivrée (*Mentha piperita*) : **11**
2. Origine, distribution géographique et culture : **13**
3. Propriétés de la menthe poivrée : **13**
4. Utilisations : **14**
Chapitre 2 : Présentation de l'espèce animale (*vers de terre*).
1. Généralités sur les vers de terres : **15**
1.1 Présentation des lombrics : **15**
1.2 Classification des vers de terre : **15**
a. Classification taxinomique : **15**
b. Classification écologique : **16**
C. Description morphologique : **18**
Chapitre 3 : Matériel et Méthodes.
Présentation des stations d'études :……..**24**
Présentation de la plante étudiée :25
Identification de la plante (*Mentha piperita)* : **26**
3. **Identification morphologique des vers de terre étudies :**
..... **3**
2
4.Méthodes d'extraction : **34**
Protocole de dilution d'huile essentielle de menthe poivrée (*mentha piperita)* :3.....**7**
Application de dilutions d'huile essentielle sur des vers de terre dans le sol : **37**
Calcul de la mortalité : **40**
Chapitre 4 : Résultats et discussion

1. Résultats :41
Analyse statistique des données (ANOVA) :50
Discussion :52
Conclusion :54
Les références bibliographiques :56

Liste des tableaux

Tableau 1 : Organes des plantes riches en huiles essentielles (Garneau, 2005). 4
Tableau 2 : Classification *(Linnaeus, C, 1753)* *12*
Tableau 3 : 12
Tableau 4 : Classification taxinomique des vers de terre **(**Razafindrakoto, 2013**)16**
Tableau 7 : Comportement des vers de terre après 24 et 48 heures d'exposition à l'huile essentielle 41
Tableau 8 : Taux de mortalité en fonction de la concentration45

Liste des figures

Figure 01 : l'huile essentielle de la Menthe poivre (photographie originale, 2025) 4
Figure2 : Poils glandulaires dans l'épiderme de Primevère de Chine x 60(*Benazzeddine, 2010).6*
Figure 3 : Canal résinifère dans l'aiguille de Pin– Coupe transversale x400 *(*Garneau, 2005*). 6*
Figure 4 : Poches sécrétrices dans le fruit du Citronnier (Citrus limon) Coupe transversale x25
Figure 5 : extraction par entraînement à la vapeur d'eau (*Farhat, 2010).*.....*8*
Figure 6 : montage d'extraction par Hydro distillation *(Piochon, 2008).* *8*
Figure 7 : L'hydro diffusion (*Smadja, 2009).*.....*9*
Figure 8 : Photographie à gauche d'une Pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de citrus
des eaux résiduelles (*Kimball, 1999 ; Dugo et Di Giacomo, 2002)10*
Figure 9 : Schéma d'une batterie d'extraction par solvants destinée aux végétaux (conforme à la loi n° 85-5 de février 1985 sur la protection de la santé) ; cette législation établit des normes de sécurité pour l'utilisation des solvants en extraction.
..... 1
1
Figure 10 : Partie aérienne de *M. piperita* (Anonyme, 2013).....12
Figure 11 : Aspect morphologique des vers de terre (photographie originale ,2025).15
Figure 12 : Disposition des soies chez les vers de terre (Bachelier, 1978). 18
Figure 13 : Structure de la tête des vers de terre selon Bouché (1972)19
Figure 14 : Anatomie d'un vers de terre (Byambas *al* ., 2017)20
Figure 15 : Cycle biologique des vers de terre (Pelosi, 2008).22
Figure 16 : Carte géographique des points de collecte de Mentha pepirita et verres de terres (2025).25
Figure 17 : Menthe poivrée ou *Mentha x piperita* (photographie originale ,2025).26
Figure 18 : photographie des coupes transversale de la menthe poivrée (photographie originale,2025) 27
Figure 19 : Coupes transversale de la menthe poivrée avec le réactif Acide acétique (photographie originale,2025).....27
Figure 20 : Coupes transversale de la menthe poivrée avec le réactif vert d'iode (photographie originale ,2025).....28
Figure 21 : coupes transversales de la tige de la menthe poivrée avec le réactif rouge Congo (photographie originale ,2025).....28
Figure 22 : Coupe transversale de tige de Menthe poivrée observée au microscope optique au grossissement *40 (photographie originale,2025) 30
Figure 23 : les poils sécréteurs de la menthe poivrée au microscope (photographie originale ,2025)
Figure 24 : Faisceau conducteur comprenant du phloème dans la partie supérieure et du xylème dans la partie inférieure, présence de procambium entre les deux. Le faisceau conducteur est entouré de fibres et de tissu parenchymateux
..... 3
1
Figure 25 : E. Fétida (photographie originale, 2025)

..... 3
3
Tableau 6 : comparaison entre *Lombrics et Eisenia*..... 34
Figure 26 : l'appareil de l'hydro distillation avec un montage de CLEVENGER (photographie originale, 2025)**.36**
Figure 27 : disposition des boites contenant de la terre (photographie originale ,2025). 38
Figure 28 : Boites remplis de terres avec les concentrations d'huile essentielle (photographie originale ,2025). 38
Figure 29 : Mise en place des vers de terre a la surface du sol dans des boites (photographie originale ,2025)..... 39
Figure 30 : Comparaison du Nombre de Morts et de Survivants selon la Concentration et le Temps d'Exposition.43
Figure 31 : corrélation entre la concentration et l'impact sur les comportements observés.44
Figure 32 : Impact de la Concentration sur le Taux de Mortalité45
Figure 33 : Impact de la Concentration sur le Nombre de Morts et le Taux de Mortalité.47
Figure 34 : Analyse de la Régression du Taux de Mortalité en Fonction de la Concentration.48
Figure 35 : Effet du temps et de la concentration sur la mortalité51

Introduction

Introduction :

La biodiversité constitue un atout majeur pour l'humanité, offrant des bénéfices allant de l'approvisionnement direct en plantes et en animaux pour l'alimentation, la médecine, et les matériaux de construction, aux valeurs esthétiques, culturelles, récréatives et de recherche (*Baranitharan et al, 2018*). Parmi les ressources naturelles, les plantes se distinguent par leur richesse en composés chimiques organiques bioactifs, en synthétisant divers phytochimiques secondaires qui jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense contre les attaques d'insectes *(*Elumalai et *al.*, 2012 ; Gokulakrishnan et *al.*, 2013.

Dans ce contexte, le genre *Mentha*, et plus particulièrement *Mentha piperita* (menthe poivrée), présente un intérêt croissant pour ses propriétés insecticides. Les huiles essentielles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle, les cosmétiques, la santé publique et l'agriculture. Certains composés actifs de *Mentha* se trouvent dans des produits commerciaux destinés à lutter contre les agents pathogènes des plantes et les insectes nuisibles *(*Singh & Pandey, 2018*).* De nombreuses études ont rapporté que *Mentha* présente une activité insecticide significative, ciblant de nombreux insectes en général et les moustiques en particulier (Ansari et *al*, 2000 ; Amer et Mehlhorn, 2006 ; Govindarajan et *al*, 2011a ; Kumar et *al*, 2011a ; Al-Sarar, 2014 ; El-Akhal et *al*, 2017 ; Manh & Tuyet, 2020). Dès lors, cette recherche vise à examiner l'effet de l'huile essentielle de menthe poivrée sur les vers de terre, des organismes clés pour la qualité et la structure des sols agricoles. La question centrale de cette étude est : dans quelle mesure l'utilisation de cette huile essentielle comme bio pesticide peut-elle

Affecter ces organismes ?

Nous formulons l'hypothèse que l'application d'huile essentielle de menthe poivrée influencera négativement la survie et l'activité des vers de terre, tout en ayant un potentiel insecticide contre les nuisibles.

Pour atteindre les objectifs de cette recherche, une approche expérimentale sera adoptée, impliquant des tests en laboratoire pour évaluer les effets de différentes concentrations

d’huile essentielle sur la survie et l'activité des vers de terre. Les résultats seront analysés afin de déterminer les impacts significatifs.

Le mémoire sera structuré en plusieurs chapitres. Le premier chapitre présentera une synthèse bibliographique sur la biodiversité. Le deuxième chapitre se concentrera sur les huiles essentielles et leur impact sur les vers de terre. Le troisième chapitre traitera de la méthodologie expérimentale, et le quatrième chapitre discutera des résultats et de leurs implications

Cette étude se limitera à l'analyse de l'huile essentielle de menthe poivrée et à son effet sur une espèce spécifique de vers de terre dans un environnement contrôlé, sans prendre en compte d'autres espèces de plantes ou d'insectes.

Les résultats de cette recherche pourront fournir des informations précieuses sur l'utilisation des huiles essentielles en agriculture, contribuant ainsi à la recherche de solutions alternatives aux pesticides chimiques, tout en protégeant la biodiversité du sol. En éclairant les effets de l'huile essentielle de menthe poivrée sur les vers de terre, cette étude vise à enrichir la compréhension des interactions entre les bios pesticides et les organismes du sol, favorisant une agriculture durable.

Chapitre 1 : Présentation des huiles essentielles et l’espèce étudié (*mentha Pepirita*)

2. Présentation des Huiles Essentielles :

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes), seulement 10 % sont dites « Aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique par l'intermédiaire de poils, poches ou canaux sécréteurs. Les genres capables d'élaborer les constituants des huiles essentielles sont répartis dans un nombre de familles limitées, telles que *les Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Asteraceae, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées et Pipéracées (*Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles sont des produits complexes, contenant des principes volatils extraits de diverses plantes. Selon la 8ème édition de la Pharmacopée française (1965), ces huiles, également appelées essences ou huiles volatiles, sont généralement modifiées lors de leur préparation (Bruneton, 2009). La norme AFNOR ISO 9235(2021) définit l'huile essentielle comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques, tels que l'entraînement à la vapeur ou la distillation sèche (Duval, 2012). Parallèlement, l'utilisation de solvants dans l'extraction est régie par des lois telles que **la Loi n° 85-5 du 3 février 1985**, qui vise à protéger la santé des consommateurs et à garantir la sécurité des produits extraits. Cette réglementation est fondamentale pour assurer que les méthodes d'extraction respectent des normes de qualité et de sécurité, essentielles dans l'industrie des huiles essentielles. Bien que les huiles essentielles ne représentent qu'une petite fraction de la composition totale d'une plante, elles confèrent des caractéristiques essentielles qui expliquent leur utilisation dans l'alimentation, la cosmétologie et l'industrie pharmaceutique *(*Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007). Leur composition peut varier de 50 à 100 molécules différentes, avec des extrêmes atteignant jusqu'à 300 molécules, qui agissent en synergie pour donner à l'huile essentielle ses propriétés *(*Lahlou, 2004*).* Il est impossible de reproduire en laboratoire la complexité de leur composition biochimique, ce qui contribue à leur efficacité dans la lutte contre les bactéries, les champignons, les virus et les insectes (Chassaing, 2006*).*

1.4 Définition :

Une huile essentielle (fig. 1) est une substance liquide, odorante, volatile, de consistance huileuse, offrant une forte concentration en principes actifs (Lardry et Haberkorn, 2007) ; elle représente l'essence de la plante, autrement dit son parfum (Bonnafous, 2013*)*

1.5 Localisation des Huiles Essentielles dans la plante :

Les huiles essentielles (tableau 1) peuvent être stockées dans différents organes végétaux, en fonction de la zone productrice du végétal, notamment dans les sommités fleuries, les feuilles, les racines ou rhizomes, les écorces, le bois, les fruits et les graines *(*Lamendin, 2004 ; Rafi et *al* ., 1995 ; Lakhdar, 2015).

Tableau 1 : Organes des plantes riches en huiles essentielles (Garneau, 2005). Le tableau ci-dessous présente les principaux organes des plantes qui contiennent des huiles essentielles, en précisant les types de plantes concernés et les structures sécrétrices impliquées.

Organe	**Exemples**
Feuilles d'Angiospermes	Romarin, sauge, menthe
Feuille de Gymnospermes	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongrass
Ecorces	Cannelier
Racine	Angelica, vétiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon, ail
Bois	Santal
Fruits	Bleuet, citron
Fleurs	Jasmin, rose
Grains	Aneth, carvi

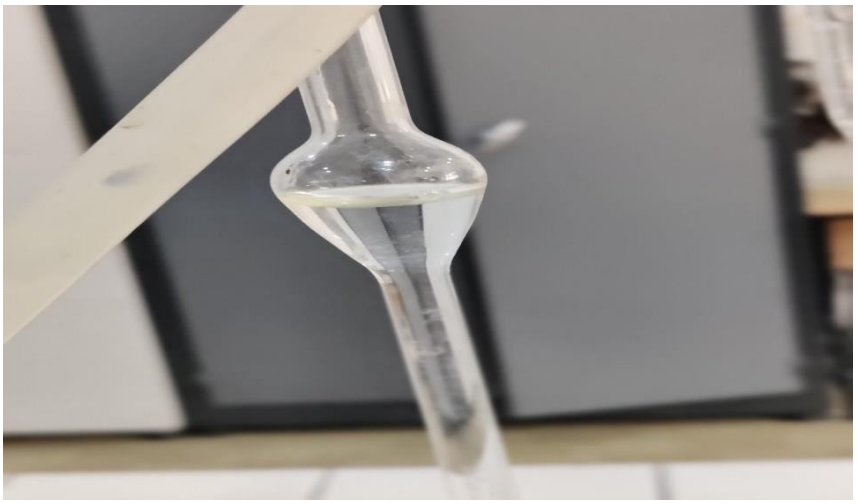


Figure 01 : l'huile essentielle de la Menthe poivre (photographie originale, 2025)

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées, telles que les cellules à huile essentielle, les cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), et les canaux sécréteurs. Ces structures jouent vraisemblablement un rôle défensif, protégeant le bois contre les insectes et les champignons, et agissant en tant que répulsifs contre les animaux herbivores (Labiod, 2016*).* Leur concentration dans les plantes est généralement faible, se situant autour de 1 à 2 %, avec des exceptions notables comme le clou de girofle, qui peut contenir jusqu'à 15 % d'huile essentielle, ou la noix de muscade avec un rendement variant de 5 à 15 %. Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on trouve les Lamiacées (thym, lavande, menthe, basilic), *les Asteraceae* (*camomille, absinthe*), *les Myrtacées (eucalyptus,melaleuca, myrte, girofle*) et les *Lauracées (cannelle, laurier).* Bien que de nombreux végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances similaires, peu d'espèces sont couramment utilisées *(*Hurtel, 2006*).*

3. Appareils sécréteurs d'huiles essentielles dans les plantes :

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement liées à la présence de structures histologiques spécialisées, que l'on retrouve dans tous les organes végétaux, qu'ils soient végétatifs ou reproducteurs. Ces structures sont le plus souvent situées à la surface de l'organe ou à proximité (Benazzeddine, 2010). On distingue trois types de structures sécrétrices :

3.1 Les poils glandulaires épidermiques :

Les plantes possédant ces poils(fig.2) appartiennent principalement aux familles des Lamiacées (comme Mentha x piperita), des *Géraniacées (Geranium tuberosum*), et des *Verbénacées (Verbena officinalis),* entre autres.

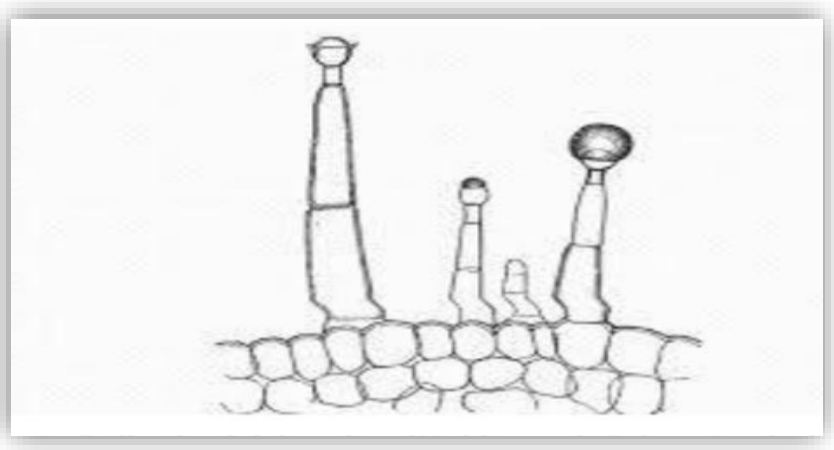


Figure2 : Poils glandulaires dans l'épiderme de Primevère de Chine x 60(*Benazzeddine, 2010).*

3.2 Les canaux glandulaires lysigènes :

Les canaux glandulaires lysigènes (fig.3) sont présents dans tous les bois résineux, en particulier au sein des *Pinacées* (comme *Pinus pinaster*), des *Apiacées (Daucus carota)* et des Cupressacées (*Cupressus sempervirens*), entre autres. Ces structures permettent la synthèse et l'accumulation d'huiles essentielles, contribuant ainsi à la défense des plantes contre divers agents pathogènes.

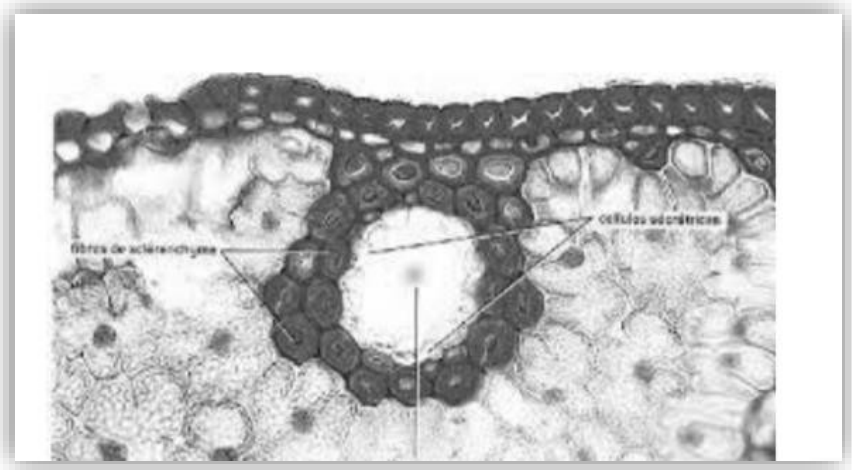


Figure 3 : Canal résinifère dans l'aiguille de Pin– Coupe transversale x400 *(*Garneau, 2005*).*

3.3 Les poches sphériques schizogénèse :

Les glandes de type poche (fig.4) sont très présentes dans la famille des Myrtacées (*Eucalyptus globulus*, ect…), mais également chez les Astéracées *(Matricaria perforata*, ect …), Rosacées (*Fragaria xananassa*,ect …), Rubiacées (*Coffea arabica*,ect …),Rutacées (Citrus limon,ect …) et autres (Garneau, 2005; Benazzeddine, 2010; Couic-Marinier et Lobstein, 2013*).*

Figure 4 : Poches sécrétrices dans le fruit du Citronnier (Citrus limon) Coupe transversale x25 (Garneau, 2005)

Avantages des Huiles Essentielles comme insecticide :

Les huiles essentielles (HE) sont des composés aromatiques extraits naturellement, ayant de nombreuses applications, notamment en tant qu'additifs aromatisants, médicaments, antioxydants, antifongiques, antibactériens et insecticides *(*Keyal et *al*., 2016 ; Govindarajan et *al* ., 2017). Au cours de la dernière décennie, des formulations à base d'HE ont été proposées comme alternatives pour le contrôle des moustiques, utilisées comme larvicides (Osanloo et al ., 2017a, b). Elles offrent des avantages significatifs, tels que leur biodégradabilité, des effets négligeables sur les espèces non ciblées et un impact minimal sur l'environnement (Vatandoost et *al* ., 2012 ; Liu et *al* ., 2015).

5. Méthodes d'extraction :

5.1. Distillation par entraînement à la vapeur :

La distillation par entraînement à la vapeur (fig.5) est une méthode officielle pour l'extraction des huiles essentielles. Dans ce processus, le matériel végétal est placé dans un alambic, sur une plaque perforée située à une certaine distance au-dessus d'un fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec de la vapeur d'eau saturée sans entrer en contact direct avec l'eau bouillante. La vapeur provoque la rupture des glandes, libérant ainsi leurs composés aromatiques. Les huiles essentielles se diffusent alors à travers le végétal, entrant en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. Les vapeurs chargées de composés volatils sont ensuite condensées et décantées. Leurs différences

de densité permettent de séparer les HE de l'eau, qui sont ensuite récupérées (Bouras, 2018). Cette technique évite les réactions pouvant survenir lors du contact des constituants des huiles essentielles avec l'eau, ce qui pourrait affecter la composition finale de l'extrait. De plus, elle est plus efficace pour les huiles essentielles contenues dans les glandes superficielles. L'extraction par distillation à la vapeur des HE non superficielles prend plus de temps et nécessite davantage de vapeur.

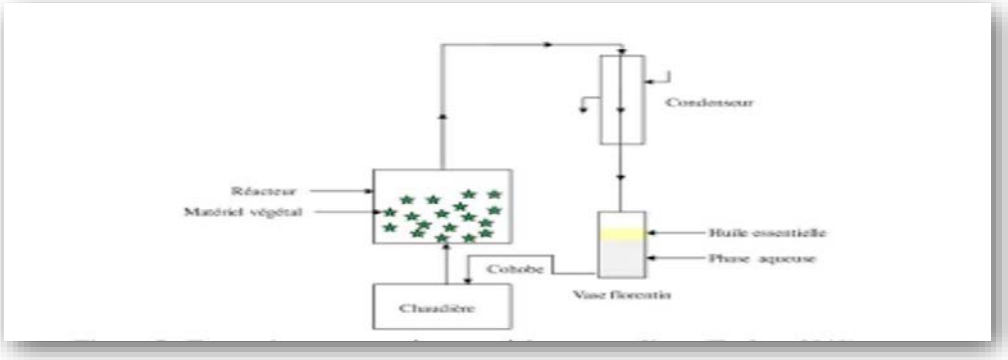


Figure 5 : extraction par entraînement à la vapeur d'eau (*Farhat, 2010).*

4.2 Extraction par hydro distillation :

L'hydro distillation (fig.6) est la méthode la plus simple et traditionnelle d'extraction des huiles essentielles. Dans cette technique, le matériau végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau, puis chauffé à ébullition. Les vapeurs générées sont ensuite condensées dans un réfrigérant, permettant à l'huile essentielle de se séparer de l'hydrolat en raison de leur différence de densité, l'huile essentielle étant généralement plus légère que l'eau, avec quelques exceptions (Franchomme et *al*., 1990 ; Richard, 1992).

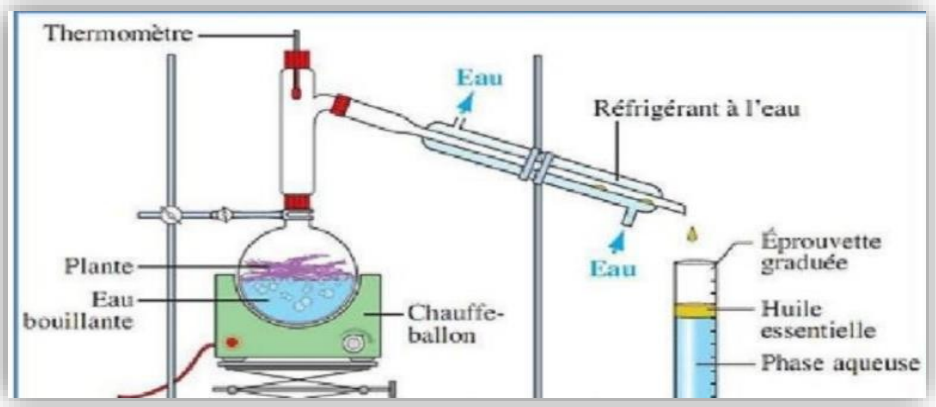


Figure 6 : montage d'extraction par Hydro distillation *(Piochon, 2008).*

4.3 Hydro diffusion :

L'hydro diffusion (fig.7) est une méthode dans laquelle la vapeur d'eau diffuse à travers le matériel végétal, descendant du haut vers le bas. Cette technique s'oppose aux méthodes de distillation conventionnelles, où le flux de vapeur circule de bas en haut à travers la biomasse. Les avantages de l'hydro diffusion se traduisent par une amélioration qualitative et quantitative de l'huile extraite, tout en permettant des économies significatives de temps, de vapeur et d'énergie (*Carnesecchi et al ., 2004).*

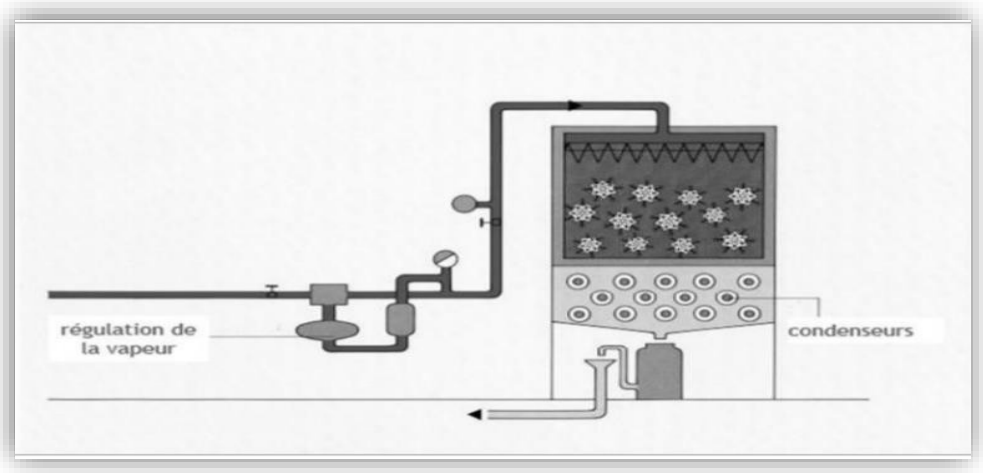


Figure 7 : L'hydro diffusion (*Smadja, 2009).*

4.4 Expression à froid :

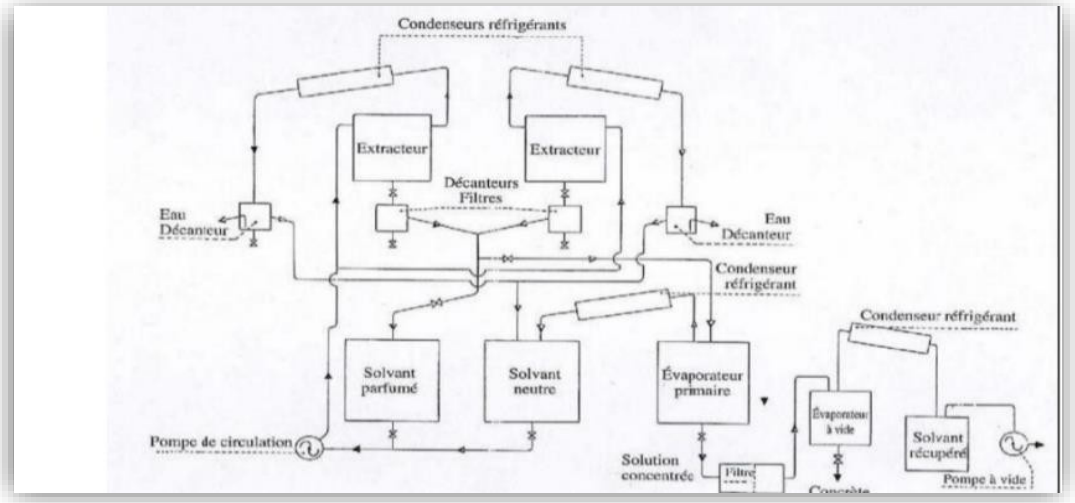
L'expression à froid (fig.8) est une technique principalement utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes, tels que les oranges, les citrons et les citrons verts. Cette méthode consiste en une extraction mécanique des zestes des fruits pour obtenir l'huile essentielle. Elle est couramment employée dans la production d'huiles essentielles d'agrumes utilisées dans l'industrie de la parfumerie et de l'alimentation (*Legault et al ., 2003).*

Figure 8 : Photographie à gauche d'une Pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de citrus des eaux résiduelles (*Kimball, 1999 ; Dugo et Di Giacomo, 2002).*

4.5 Extractions par les solvants et par les graisses :

Certaines méthodes d'extraction (fig.9) ne produisent pas des huiles essentielles à proprement parler, mais plutôt des concrètes, qui sont des extraits de plantes obtenus à l'aide de solvants non aqueux. Ces solvants, tels que l'hexane et l'éther de pétrole, ainsi que des graisses et des huiles, ont un pouvoir d'extraction supérieur à celui de l'eau. Par conséquent, les extraits contiennent non seulement des composés volatils, mais aussi de nombreux composés non volatils, incluant des cires, des pigments et des acides gras (Richard, 1992 ; Robert, 2000).

Lorsque des corps gras sont utilisés pour l'extraction, un lavage à l'éthanol est effectué afin d'éliminer les composés indésirables. La solution alcoolique résultante est ensuite refroidie à -10 °C pour solidifier les cires végétales, qui sont séparées. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est désigné comme un « absolu », dont la composition se rapproche de celle d'une huile essentielle (Proust, 2006). Il convient de noter que l'extraction par solvants organiques peut poser des problèmes de toxicité dus aux résidus de solvants, ce qui est crucial à considérer, en particulier pour les extraits destinés aux industries pharmaceutique et agroalimentaire (Bruneton, 1999).



:

Figure 9 : Schéma d'une batterie d'extraction par solvants destinée aux végétaux (conforme à la loi n° 85-5 de février 1985 sur la protection de la santé) ; cette législation établit des normes de sécurité pour l'utilisation des solvants en extraction.

5. Présentation de la menthe poivrée (*Mentha piperita*) :

5.1 Description botanique :

La menthe poivrée (*Mentha piperita)* est une plante vivace de la famille des Lamiacées (fig.10), à la fois cultivée et indigène. Elle se distingue par sa végétation vigoureuse, son odeur pénétrante et sa saveur aromatique, laissant une sensation de fraîcheur (Hammami et Abdessalem, 2005*).* Cette plante est un hybride entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata),* qui possèdent également des propriétés médicinales (Baudoux, 2002).

Les feuilles de *Mentha piperita* mesurent entre 4 et 10 cm de long, sont ovales, vert foncé, et peuvent apparaître rougeâtres au soleil ou cuivrées à l'ombre (Fouzi, 1994). Elles présentent des poils sécrétoires qui accumulent des substances odorantes volatiles. Les tiges, souvent violettes et quadrilatères, atteignent 50 à 80 cm de hauteur, avec des branches dressées et opposées (Hammami et Abdessalem, 2005).

Les fleurs, regroupées en épis serrés, sont rose violacé avec un calice à cinq dents. La corolle, de couleur pourpre violacée (parfois blanche), se termine par quatre lobes, et les quatre étamines sont incluses dans la corolle. Les graines sont clairsemées et stériles.

Figure 10 : Partie aérienne de *M. piperita* (Anonyme, 2013).

5.2 Classification botanique :

La systématique des plantes (tableau 2) vise à classer et à organiser les espèces végétales en fonction de leurs caractéristiques communes et de leurs relations évolutives. Dans ce contexte, le tableau 2 ci-dessous présente la classification botanique de la menthe poivrée (*Mentha piperita),*

Tableau 2 : Classification *(Linnaeus, C, 1753)*

Embranchement	*Spermaphytes*
Sous- embranchement	*Angiospermes*
Classe	*Dicotylédones*
Sous- classe	*Gamopétales*
Ordre	*Sympetales*
Famille	*Lamiacées (labiacees)*
Genres	*Mentha*
Espèces	*Mentha piperita*

Tableau 3 : La menthe poivrée *(Mentha piperita)* est une plante aromatique largement reconnue et utilisée dans de nombreuses cultures à travers le monde. Connue pour son arôme distinctif et ses propriétés bénéfiques, la menthe poivrée se décline sous plusieurs noms selon les régions et les langues. Le tableau 3 ci-dessous présente une sélection des appellations de la menthe poivrée

Dans différentes cultures, illustrant la diversité linguistique et culturelle qui entoure cette plante prisée.

En Europe	**Anglais :** peppermint. **Espagnol** : Hierbabuena, Menta, Piperita. **Portugais** : *Menta.* **Français** : Menthe anglaise, *mentha poivrée.*
En Afrique	**Arabe** : nanafolfoli
En Asie	**Inde :** pudina, pudinha. **Chine :** Ara nae, bai sa ra Naiesaranae.

6. Origine, distribution géographique et culture :

Mentha piperita est un hybride cultivé, provenant probablement d'Angleterre et des pays méditerranéens (François, 2012*).* Elle est cultivée en Europe, en Asie, en Afrique du nord et en Amérique de nord. Elle affectionne les sols humides ou, au contraire, secs, en fait, cela dépend de l'espèce. En général, la menthe poivrée est plantée en mars, avril. On peut la bouturer en mars, juillet et août. Elle est récoltée de mai à octobre. Elle doit, de préférence, être plantée dans un endroit ensoleillé. Elle nécessite un sol drainé, fertile et frais, riche en calcaire et en argile.

Elle requiert un pH entre 6 et 7. Elle se reproduit grâce à des stolons (Abbas, 2005*).*

7. Propriétés de la menthe poivrée :

La menthe poivrée est répandue dans le monde pour la production de l'essence qui contient la menthone et du menthol qui sont des aromatiques rafraîchissantes. La menthe est stimulant général, elle est aussi antispasmodique, antiseptique et légèrement aphrodisiaque, digestif, bactéricide puissant, parasiticide cholagogue (facilite l'évacuation de bile vers l'intestin) (Hammami et Abdesselem, 2004).

8. Utilisations :

8.1 Utilisation thérapeutique et traditionnelles :

- **Trouble digestif :**

La menthe poivrée stimule la sécrétion des sucs digestifs et de la bile, soulageant nausées, ballonnements et colites. Son action antispasmodique est efficace pour la diarrhée et la constipation (Youcef, 1990 ; Iserin, 2001*).*

- **Douleur :**

Elle soulage les maux de tête, les démangeaisons cutanées, les inflammations des voies respiratoires et de la muqueuse buccale, ainsi que les douleurs rhumatismales et névralgiques (Hammami et Abdessalem, 2005*).*

- **Infection :**

L'huile essentielle, diluée, peut être utilisée en inhalation ou en massage léger sur la poitrine pour les affections bronchiques. La plante entière est efficace en cas de gastro-entérites (Iserin, 2001). Attention : son utilisation médicinale n'est pas recommandée chez les jeunes enfants en raison de ses effets excitants et potentiellement irritants (Baba Aïssa, 1999).

8.2 Utilisation commerciale :

La menthe poivrée est importante en utilisation industrielle comme aromatisant aussi bien pour les produits médicamenteux que pour ceux de la parapharmacie et de l'hygiène. L'industrie agro-alimentaire est le principal consommateur : liquoristerie (liqueur, sodas, sirops à diluer) confiserie (bonbon et sucre cuits, pâtes à mâcher chocolat) l'industrie de tabacs et la parfumerie. 90% de la production mondiale d'essence de menthe poivrée est produite par les USA (Hammami et Abdessellem ,2005).

Chapitre 2 :

Présentation de l’espèce animale (*vers de terre*).

2. Généralités sur les vers de terres :

2.1 Présentation des lombrics :

Les lombrics sont des vers annelés(fig.11) , ou Annélides (Bachelier, 1978*).* Dans la plupart des écosystèmes terrestres, ce sont les lombrics qui dominent le macrofaune du sol. En Europe, il existe 400 et en Suisse 40 espèces de vers de terre (Pfiffner, 2013*).* Selon Vigot et Cluzeau(2014*)*, l'identification des vers de terre montre qu'il y a plus de 3000 espèces dans le monde, dont une centaine en France. Les vers de terre représentent environ 70 % de la biomasse animale terrestre dans les zones tempérées.

Figure 11 : Aspect morphologique des vers de terre (photographie originale ,2025).

2.2 Classification des vers de terre :

c. Classification taxinomique :

Les vers de terre, des invertébrés appartenant à l'embranchement des Annélides, se classifient comme suit : ils relèvent de la classe des *Clitellata* et de l'ordre des *Haplotaxida* (Morin, 1999). Ils se répartissent en différentes familles selon des caractéristiques spécifiques (Razafindrakoto, 2013). Comme illustre dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Classification taxinomique des vers de terre **(**Razafindrakoto, 2013**)**

Embranchement	***Annelida (Annélides)***
Classe	*Clitellata*
Sous-Classe	*Oligochaeta*
Ordre	*Haplotaxida*
Sous-Ordre	*Lumbricina*
Famille communes	*Lumbricidae, Megascolecidae*
Genres	*Lumbricus, Eisenia, Aporrectodea*

d. Classification écologique :

1. Espèce épigée : Ces vers vivent dans les couches de surface, principalement la litière. Leur taille à l'état adulte varie de 10 à 30 mm, avec une pigmentation sombre (ventrale et dorsale). Ils se déplacent rapidement en réponse aux perturbations et forment des cocons pour survivre à la sécheresse. Exposés aux prédateurs, notamment les oiseaux.

2. Espèce anécique *:* S'enfouissant dans le sol tout en se nourrissant à la surface, ces vers mesurent entre 10 et 110 cm et présentent une pigmentation modérée, souvent uniquement dorsale. Ils se déplacent plus lentement que les épigés et entrent en quiescence pour survivre à la sécheresse. Moins exposés aux prédateurs dans leurs galeries, ils le sont davantage à la surface.

3. Espèce endogée : Vivant dans les horizons minéraux, ces vers se nourrissent de matière organique présente dans le sol. Leur taille adulte varie de 1 à 20 cm, avec peu ou pas de pigmentation. Ils se déplacent lentement et passent à l'état de diapause pour faire face à la sécheresse, étant rarement exposés aux prédateurs tels que les oiseaux et les arthropodes.

Tableau 5 : principales caractéristiques des trois catégories écologiques des vers de terre décrites par Boucher (1972 ,1977). Les vers de terre sont classés en trois grandes catégories écologiques selon leur habitat, leur comportement alimentaire et leur morphologie.

Groupe	**Epigés**	**Endogés**	**Anéciques**
Représentants			

	Espèces qui habitent dans la litière de surface.	Espèces qui creusent des galeries horizontales et superficielles.	Espèces qui creusent des galeries verticales et profondes.
Habitat	Dans la litière de surface, surtout Dans les prairies, la forêt et le compost. Se trouvent rarement Dans les sols labourés puisqu'il ne peut pas s'y former de couche de litière durable.	Couche arable (5–40 cm), sols Minéraux humiques. Surtout Galeries horizontales et instables. Les jeunes vers se trouvent géné- ralement assez haut dans la zone des racines des plantes.	Toutes les couches du sol jusqu'à 3–4 m de profondeur. Creusent des galeries verticales et stables (Ø 8–11 mm) de diamètre où ils Séjournent normalement pen- dant toute leur vie. Importants dans les sols agricoles.
Grandeur	Petits, le plus souvent 2-6 cm de longueur.	Petits ou jusqu'à 18 cm de longueur.	Le plus souvent grands, 15-45cm de longueur.
Alimentation	Petits morceaux de plantes restes à la surface du sol.		
Multiplication	Forte.	Limitée.	Limitée.
Durée de vie	Courte 1-2 ans.	Moyenne 3-5 ans	Longue 4-8 ans.
Sensibilité a la Lumière	Faible.	Forte.	Modérée.
Couleur	Globalement rouge-brunâtre.	Pale	Rouge-brun, tète plus foncée.
Exemples	Ver du compost, ver rouge du marécage.	Octolasium lacteum,allolobo- phora caliginosa.	Lombric, ver a tête noire.

D. Description morphologique :

Les vers de terre, classés comme Annélides fouisseurs, possèdent un corps très extensible segmenté. L'extrémité antérieure est pointue, tandis que l'extrémité postérieure est légèrement aplatie. La pigmentation dorsale est généralement plus foncée que celle de la face ventrale, et le vaisseau sanguin dorsal est visible à travers la peau (Carion, 2012).

1. **Taille** : La taille des vers de terre varie considérablement, pouvant aller de quelques millimètres à 3 mètres, comme certaines espèces d'Amérique du Sud et d'Australie (Razafindrakoto, 2013). Cette variation peut être influencée par des facteurs environnementaux tels que le pH ou l'humidité du sol (Bachelier, 1963*).*
2. **Coloration :** La coloration des lombrics varie selon les espèces. Les genres Lumbricus, *Eisenia*, et *Dendrobaena*, qui vivent dans des litières en décomposition, sont souvent rouges ; par exemple, *Eisenia foetida* se distingue par ses bandes brunes et chamois. En revanche, les genres *Allolobophora* et *Octolasium*, vivant moins en surface et ingérant davantage de matières minérales, présentent une coloration allant du gris au gris bleuté. **A.** *chlorotica* est souvent verdâtre avec un *clitellum* rose bien marqué (Bachelier, 1963). De plus, les vers vivant dans des régions relativement sèches tendent à être plus foncés que ceux des zones humides (Bachelier, 1978*).*
3. **Soies :** Les vers de terre possèdent des soies (fig.12) peu nombreuses et de forme peu variée, implantées en 8 rangées groupées par deux dans les téguments. Certaines espèces d'oligochètes supérieurs, notamment celles de la famille des *Megascolecidae*, présentent des soies multipliées qui forment une ceinture presque complète au milieu des segments (Bachelier, 1963*).*

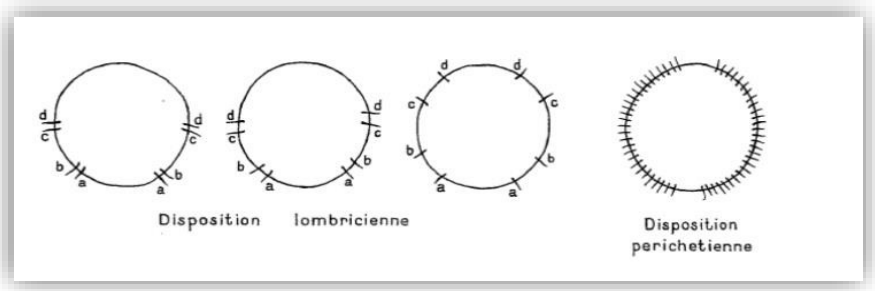


Figure 12 : Disposition des soies chez les vers de terre (Bachelier, 1978).

4. **La tête :** Le prostomium forme l'extrémité antérieure du ver et a une signification différente des segments du corps. Ses relations externes avec le premier segment sont cruciales en systématique, chaque disposition ayant un nom spécifique (fig.13).

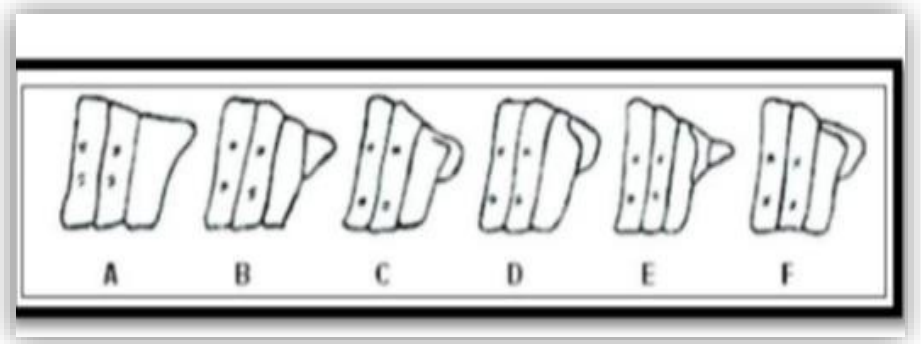


Figure 13 : Structure de la tête des vers de terre selon Bouché (1972)

Les types de prostomium incluent :

- Zygolobique (A)
- Prolobique (B)
- Épilobique ouvert (C)
- Épilobique fermé (D)
- Subdivisé (E)
- Tanylobique (F)

9. **Pigydium :** Le pygidium (du grec pygê, signifiant fesse) est le dernier segment de l'animal. Il est dépourvu de cavité cœlomique et entoure l'anus.

10. **Pores dorsaux :** Les pores dorsaux sont de petites ouvertures situées sur les sillons inter-segmentaux ou la ligne dorsale, n'apparaissant que chez les oligochètes terricoles. Ces ouvertures communiquent avec la cavité centrale et le fluide cœlomique. Le corps est mou et maintenu humide grâce à un léger mucus. Le ver se déplace par la contraction de nombreux muscles contenus dans chaque segment, utilisant un mode de déplacement appelé "rampement". Ce mode de locomotion est distinct de l'ondulation observée chez certains

Vertébrés, et les vers s'agrippent aux aspérités du sol grâce aux soies de leur face ventrale. Ils dégagent également une odeur caractéristique.

E. Anatomie :

La structure interne d'un vers de terre se compose de trois cylindres concentriques (fig.14). La partie interne contient un long intestin qui traverse le corps, tandis que la partie médiane est formée de deux séries de muscles : l'une longitudinale et l'autre circulaire. Enfin, l'épiderme constitue l'enveloppe externe, appelée cuticule. Chez le lombric, on distingue six systèmes distincts :

- Un système nerveux
- Un système respiratoire
- Un système circulatoire
- Un système digestif
- Un système excréteur
- Un système reproducteur

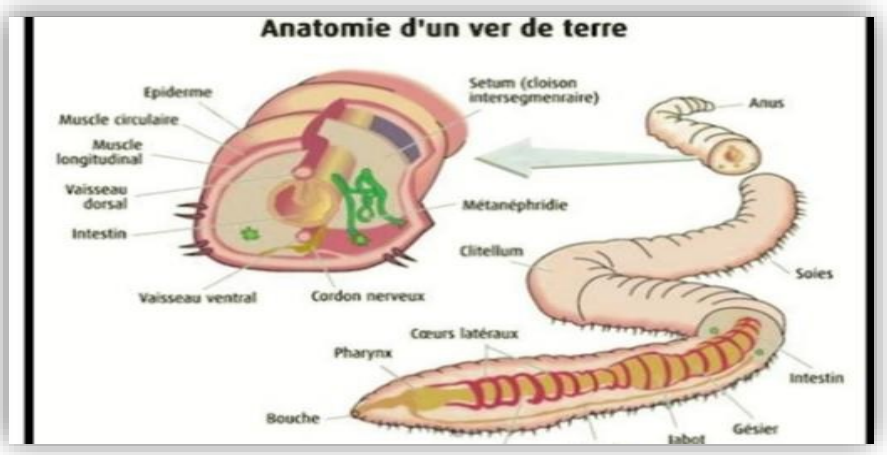


Figure 14 : Anatomie d'un vers de terre (Byambas *al* ., 2017)

E.1 Système respiratoire :

Les échanges gazeux chez les vers de terre s'effectuent directement à travers la peau, qui doit rester constamment humide ; l'oxygène et le dioxyde de carbone ne peuvent pas traverser une peau sèche. Un lombric laissé hors de son habitat dans un sol sec risque l'asphyxie.

E.2 Appareil circulatoire :

L'appareil circulatoire comprend : Un vaisseau dorsal situé au-dessous du tube digestif. Un vaisseau ventral situé sous le tube digestif. En avant, au niveau de l'œsophage, 5 à 8 paires de

Vaisseaux latéraux, ou anses contractiles, font communiquer le vaisseau dorsal avec le vaisseau ventral et assurant la propulsion du sang. En arrière de l'œsophage, le vaisseau dorsal est également relié au vaisseau ventral par des anses latérales non contractiles. L'appareil circulatoire est donc entièrement clos (Villeneuve et Désire, 1965*).* Sur toute sa longueur, le vaisseau dorsal est contractile ainsi que les anses latérales appelées encore cœurs latéraux. Dans ce vaisseau dorsal le sang circule d'arrière en avant et les anses contractiles propulsent le sang vers le vaisseau ventral, non contractile, où le sang chemine d'avant en arrière. L'appareil circulation du lombric, renferme du sang rouge, contenant un chromoprotéine respiratoire voisin de l'hémoglobine humain, dissout dans le plasma ; il n'y a pas d'hématies, mais des globules blancs (Boue et Chanton, 1974*).*

E.3 Reproduction :

Le ver de terre est un hermaphrodite protandre, signifiant qu'il est successivement mâle puis femelle. Lorsqu'il atteint l'âge de la reproduction, une partie de son corps s'épaissit pour former une bague, le clitellum. Lors de l'accouplement, seuls les organes reproducteurs mâles sont matures. Le ver échange des spermatozoïdes avec son partenaire et les stocke dans des poches internes appelées *spermathèques.* Après cet échange, les vers se séparent. Après quelques jours à quelques semaines, les organes reproducteurs mâles régressent, laissant place aux organes reproducteurs femelles, permettant alors la production d'ovules. Le clitellum sécrète un mucus qui forme un cocon, où la fécondation a lieu. Le ver glisse le cocon le long de son corps jusqu'à ce qu'il se détache et se ferme. Chaque cocon contient généralement plus d'une vingtaine d'ovules, mais souvent un ou deux individus seulement s'y développent, avec un maximum de cinq chez les espèces épigées.

E.4 Cycle de vie :

Le cycle biologique du ver de terre (fig.15) englobe l'ensemble de la production, depuis l'éclosion des juvéniles jusqu'à l'âge adulte. Selon Tomlin (1981*),* le ver du fumier se reproduit efficacement à des températures comprises entre 20 °C et 25 °C, où le cycle complet prend environ 52 jours en conditions optimales. Pour des espèces plus grandes comme *Lumbricus terrestris* et *Octodrilus complanatus*, le cycle de vie peut atteindre jusqu'à 220 jours à une température de 20 ± 2 °C (Monroy et *al* ., 2007*).* La durée du cycle de *vie dépend fortement de l'espèce, des conditions climatiques et du type de matière organique (*Joshi et Dbral, 2008).

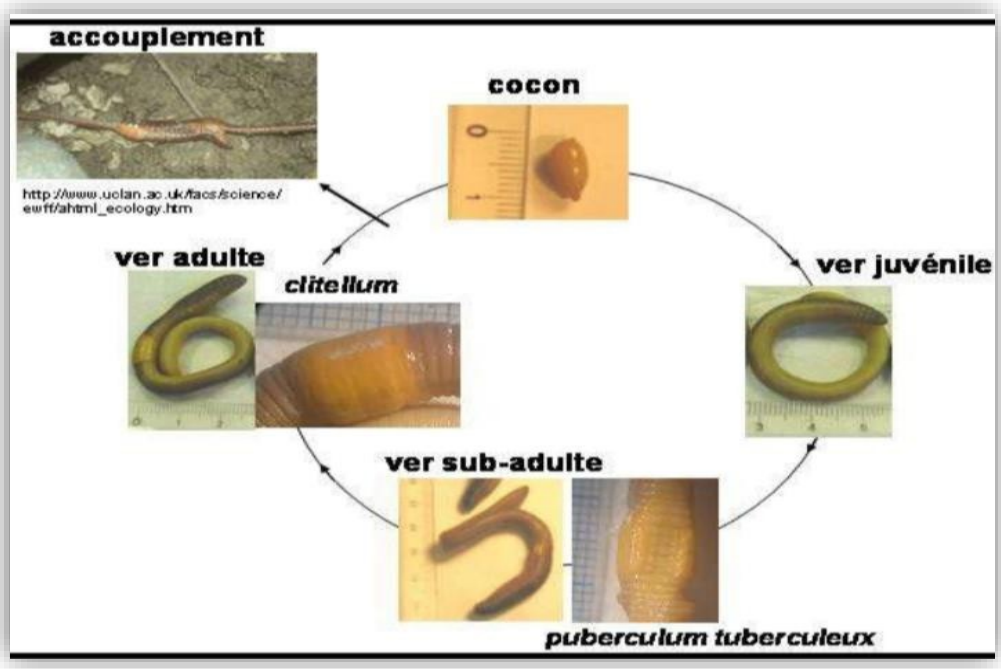


Figure 15 : Cycle biologique des vers de terre (Pelosi, 2008).

F. Condition abiotique des vers de terre :

F.1 Température et humidité du sol :

La température influence le développement des vers de terre. La production de cocons par les lombrics augmente quatre fois lorsque la température passe de 6 à 16 °C (Evans et Guild, 1948). D'après Bachelier (1978), les conditions optimales de température se situent entre 10 et 20 °C pour les espèces tempérées, et entre 20 et 30 °C pour les zones tropicales. Peu d'espèces survivent à des températures inférieures à 0 °C ou supérieures à 28 °C. Composés à 80-90 % d'eau lorsqu'ils sont hydratés, les vers sont sensibles à de faibles niveaux d'humidité. Des conditions défavorables de température et d'humidité affectent leur survie, leur fécondité et leur croissance (Lee, 1985*).* La température et l'humidité sont des facteurs clés régulant l'abondance et l'activité des vers dans leur milieu naturel (Pelosi, 2008).

F.2 Type de sol et pH :

Les vers de terre sont plus abondants dans les sols limoneux, argilo-limoneux et argilo sableux que dans les sables, graviers ou argiles (Guild, 1948*).* Ils sont généralement absents dans des sols très acides (pH < 3,5) et peu nombreux dans des sols à pH < 4,5 (Curry, 1998). Chaque espèce à un pH optimal (Edwards et Bohlen, 1996), et la plupart des espèces tempérées se trouvent dans des sols à pH compris entre 5,0 et 7,4 (Satchell, 1967*).*

F.3 Salinité :

La sensibilité des vers de terre à la salinité varie selon l'espèce et le type de sel. Selon Bachelier (1978), certaines espèces sont euryhalines, mais les vers fouisseurs évitent généralement les sols dont la salinité dépasse 0,4 %. D'après Chaoui (2010*),* l'ammonium est le principal facteur de salinité, et les vers de terre sont repoussés par une salinité supérieure à 5 mg/g. Par conséquent, si le sol est pauvre en sel, le lombricompost issu des vers le sera également.

F.4 Le rôle écologique des vers de terre *:*

Les vers de terre jouent un rôle écologique essentiel dans le sol. Leurs galeries facilitent l'infiltration de l'eau, limitant ainsi le ruissellement et l'érosion, et permettant l'accès à l'eau pour les racines des végétaux. Le sol travaillé par les vers de terre développe une structure granulaire stable, moins sensible à l'érosion éolienne (Gates, 1972). Les lombriciens sont également cruciaux pour le recyclage de la matière organique. Certaines espèces enterrent les résidus organiques, tandis que d'autres aident à leur décomposition, rendant des éléments nutritifs accessibles aux organismes vivants du sol (Gates, 1972). Ils se nourrissent principalement de matière organique à divers stades de décomposition. Les recherches de Gutierrez et *al*. (2006) montrent que les lombriciens ne sont pas prédateurs d'acariens ou de microarthropodes. Selon Dash (1986), chaque espèce de ver de terre a son propre substrat alimentaire, et Brown et Doube (2004) suggèrent qu'ils peuvent choisir différents groupes d'organismes du sol dans leur régime alimentaire.

Chapitre 3 :

Matériel et Méthodes.

1. **Présentation des stations d’études :**

Station d’étude Ouagnoune :

La commune d'Ouaguenoun constitue une circonscription administrative algérienne, située dans la wilaya de Tizi-Ouzou, au sein de la région de Kabylie. Son chef-lieu se trouve dans la commune éponyme d'Ouaguenoun, qui fait l'objet de notre étude. La daïra d'Ouaguenoun est composée de trois communes : Aït Aïssa Mimoun, Timizart et Ouaguenoun.

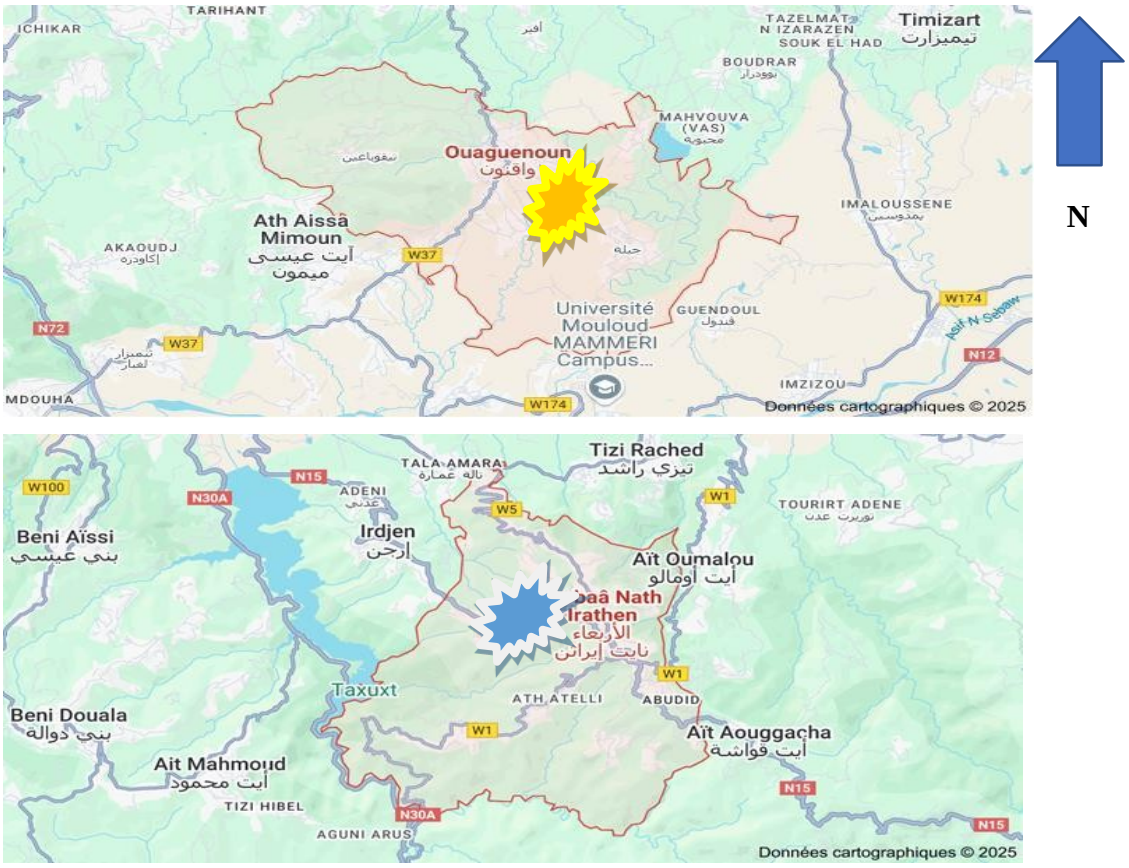
À l'ouest de la daïra d'Ouaguenoun, on trouve la daïra de Makouda ainsi que celle de Draa Ben Khedda. À l'est, se situe la daïra d'Azazga, tandis qu'au sud, se trouve la daïra de Tizi Ouzou.

La menthe poivrée utilisée dans cette étude a été récoltée dans la région d’Ouagnoune.

Station d’étude L’araba Nath Irathen :

Larbaa Nath Irathen est une commune situe au centre-est de la wilaya de Tizi Ouzou, en Algerie. Elle est situee a environ 10km au sud-est de Tizi Ouzou et 80 km à l’ouest de Bejaia. La commune se trouve dans une zone montagneuse, sur le versant nord du massif du Djurdjura. Son altitude moyenne est de 937 mètres.

C’est dans cette région qu’ont été collectes les vers de terre utilises dans le cadre de cette étude.



Légende :

Point de collecte des vers de terre.

Point de collecte de *Mentha pepirita.*

Figure 16 : Carte géographique des points de collecte de Mentha pepirita et verres de terres (2025).

2. Présentation de la plante étudiée :

La menthe poivrée (*Mentha × piperita) (fig.17)* est une plante aromatique originaire du Moyen-Orient et d'Asie, connue pour ses propriétés médicinales et son utilisation dans la production d'huile essentielle. Cette plante préfère les terrains frais, argileux et calcaires (Zybak, 2000). Dans cette étude, l'huile essentielle de menthe poivrée a été choisie en raison de ses propriétés insectifuges et stimulantes, qui pourraient influencer le comportement et la physiologie des vers de terre.

Figure 17 : Menthe poivrée ou *Mentha x piperita* (photographie originale ,2025).

2.1 Identification de la plante (*Mentha piperita)* :

Notre recherche a été menée au sein du laboratoire de pharmacognosie de la faculté de médecine à l'Université Mouloud Mammeri. Avec la collaboration du Dr Louadj, qui a contribué à l'identification de la plante *Mentha piperita.*

a. Examen microscopique des coupes transversales des drogues végétales :

Pour réaliser les coupes de drogues végétales, nous avons suivi les étapes suivantes (fig. 18.19.20.21) :

- Les coupes réalisées sont généralement des sections transversales.
- À l'aide d'une lame de rasoir, nous avons réduit la drogue.
- La lame de rasoir a été appliquée perpendiculairement à l'axe de la drogue afin d'obtenir une coupe très mince. Ce mouvement doit être rapide et uniforme, sans saccades ni reprises.

b. **Coloration des coupes végétales** :

La double coloration est la méthode la plus couramment utilisée. Et elle consiste en plusieurs étapes :

1. Placer les coupes d'organes dans une solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel) pendant 15 – 20 minutes afin de détruire le contenu cellulaire.
2. Laver abondamment à L'eau distillée pour éliminer l'excès d'eau de javel.
3. Placer les coupes d'organes dans une solution d'acide acétique à 1% pendant 1 minute afin de neutraliser le réactif alcalin précède.
4. Laver à nouveau à l'eau distillée pour éliminer l'excès d'acides.

5. Placer les coupes d'organes dans une solution de vert d'iode pendant 7 minutes. Ce réactif colore les tissus lignifies (en vert).
6. Laver abondamment à l'eau distillée pour éliminer l'excès colorant.
7. Placer les coupes d'organes dans une solution de rouge Congo pendant 5minute. Ce réactif colore les tissus cellulosiques en rose.
8. Laver encore une fois à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant.

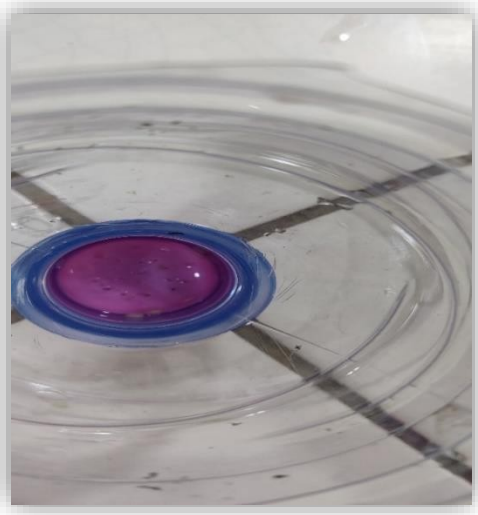
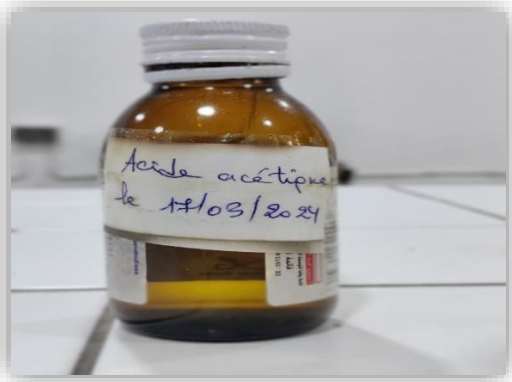


Figure 18 : photographie des coupes transversale de la menthe poivrée (photographie originale

,2025)



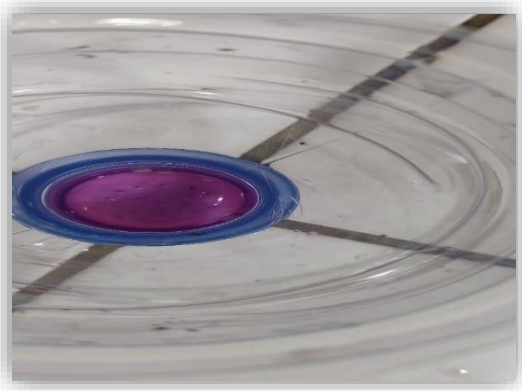


Figure 19 : Coupes transversale de la menthe poivrée avec le réactif Acide acétique (photographie originale,2025).

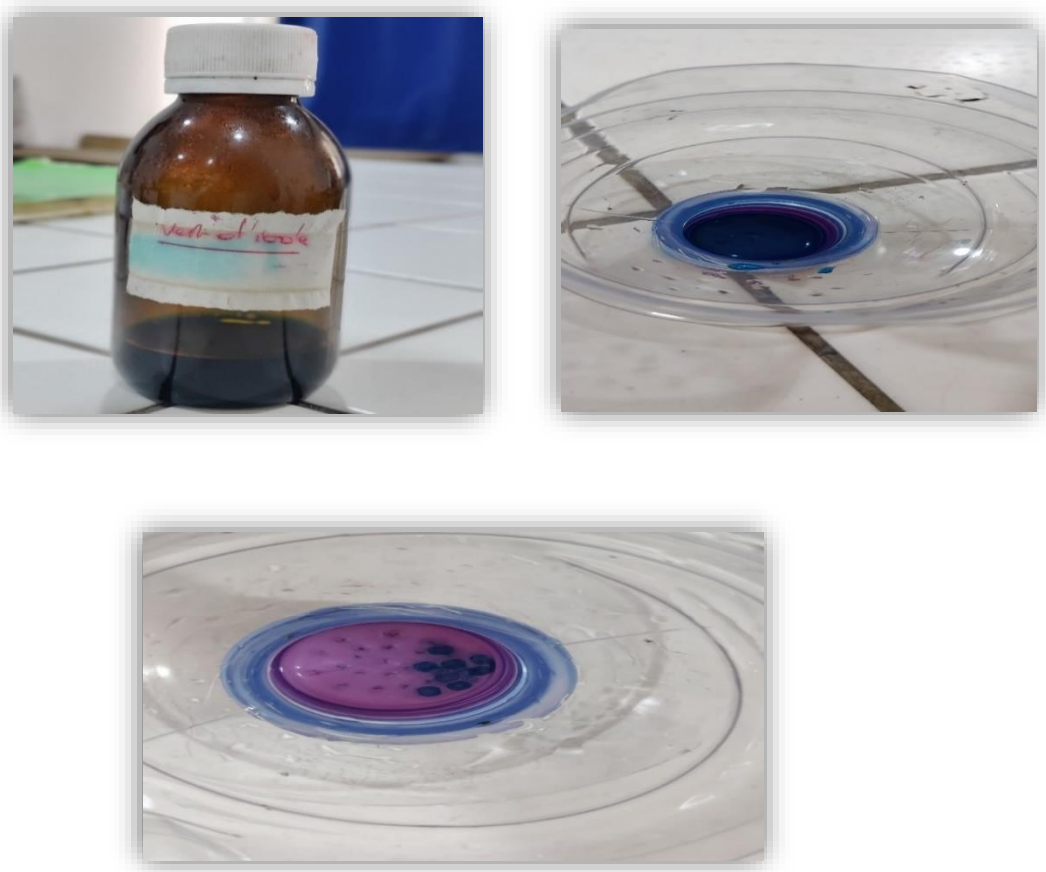


Figure 20 : Coupes transversale de la menthe poivrée avec le réactif vert d'iode (photographie originale ,2025).

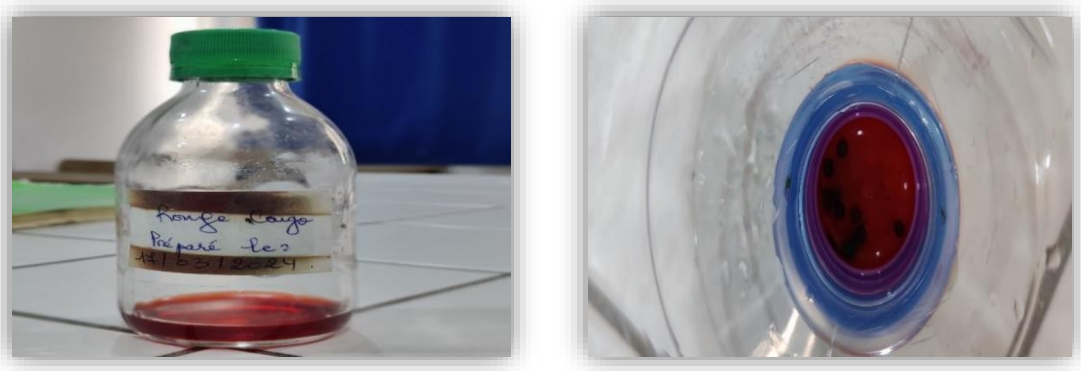


Figure 21 : coupes transversales de la tige de la menthe poivrée avec le réactif rouge Congo (photographie originale ,2025).

c. Les résultats sous le microscope :

L’analyse microscopique des échantillons a permis d’identifier plusieurs structures biologiques significatives, chacune ayant des fonctions spécifiques et des caractéristiques distinctes. Voici un aperçu des principaux éléments observés :

Épiderme : L'épiderme (fig22) représente la couche externe des tissus, jouant un rôle crucial dans la protection des tissus sous-jacents contre les agressions environnementales. Son observation au microscope révèle une structure cellulaire stratifiée, où les cellules épidermiques sont généralement compactes et disposées de manière à minimiser la perte d'eau, tout en permettant les échanges gazeux nécessaires à la photosynthèse.

Poils sécréteurs : Les poils sécréteurs (fig.23), semblables aux poils glandulaires, sont également observés dans les tissus végétaux. Leur fonction principale est de produire des substances comme les nectars ou les mucilages, qui attirent les pollinisateurs ou facilitent la croissance des racines. Leur morphologie et leur disposition sont adaptées à ces fonctions, offrant un aperçu fascinant de l'interaction plante-environnement.

Liber : En botanique, le terme "liber" fait généralement référence au tissu phloème (fig24), qui est responsable du transport des nutriments (sucres) produits par la photosynthèse. Il est opposé au xylème, qui transporte l'eau et les minéraux.

Bois (xylème) : Le xylème (fig.24) est le tissu végétal qui transporte l'eau et les sels minéraux des racines vers les parties aériennes de la plante. Il est également composé de cellules qui assurent le soutien structurel.

Parenchyme cortical : Ce tissu est situé dans l'écorce de la tige ou de la racine et se compose de cellules vivantes, souvent à paroi mince. Il est impliqué dans le stockage des nutriments, la photosynthèse (dans les tiges vertes) et la respiration.

Parenchyme médullaire : Ce type de parenchyme se trouve dans la moelle des tiges et des racines. Il a une fonction similaire à celle du parenchyme cortical, servant principalement au stockage.

Collenchyme : Ce tissu de soutien est constitué de cellules vivantes avec des parois épaissies, généralement dans les coins. Il se trouve souvent sous l'écorce et confère une flexibilité et un soutien aux jeunes tiges et feuilles **(https://biologievegetale.be/morphologie- végétale/angiospermes/angiospermes-**

histologie/).

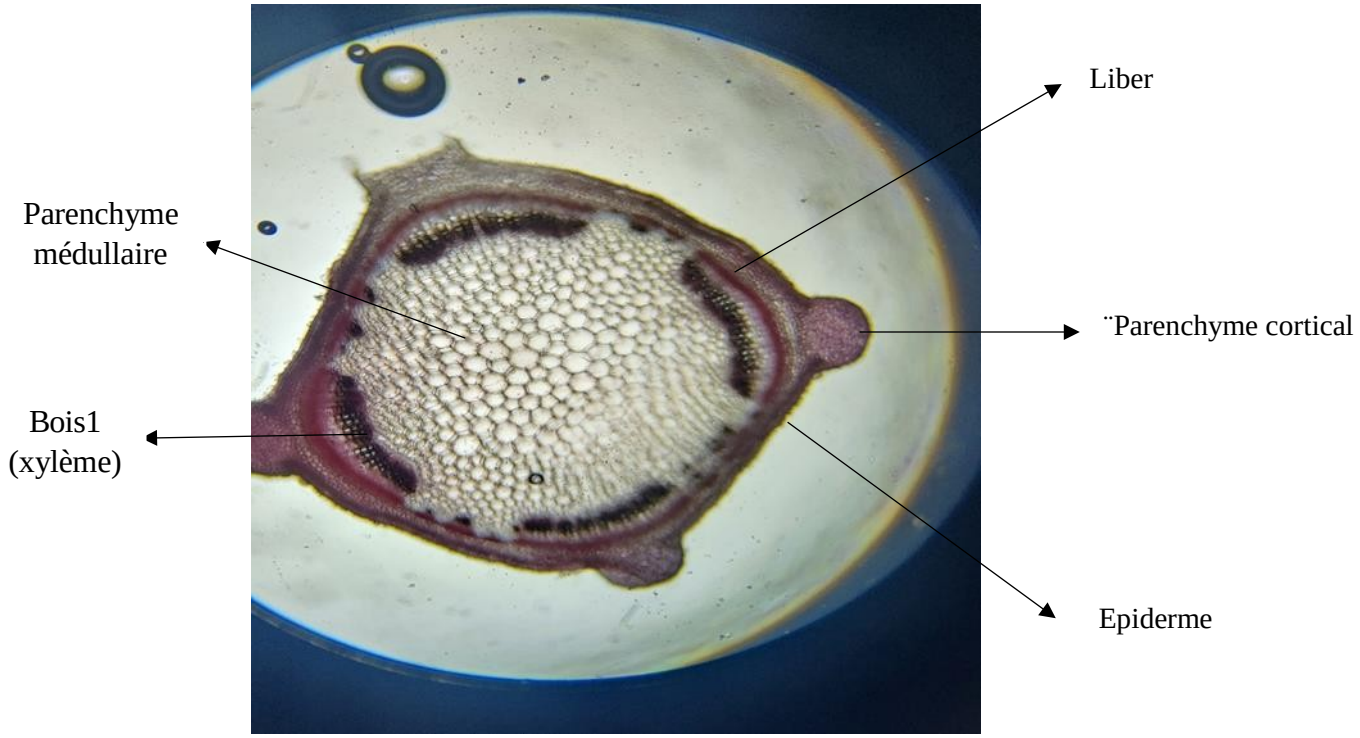


Figure 22 : Coupe transversale de tige de Menthe poivrée observée au microscope optique au grossissement *40 (photographie originale,2025)

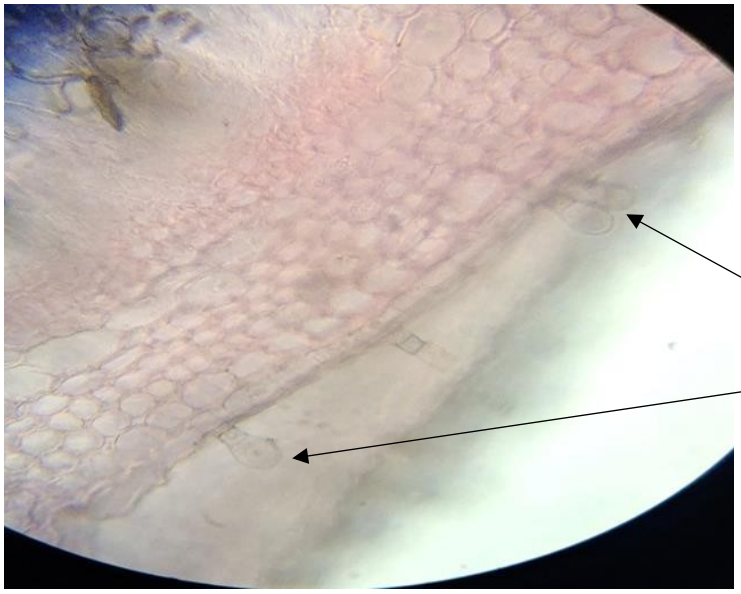


Figure 23 : les poils sécréteurs de la menthe poivrée au microscope (photographie originale ,2025)

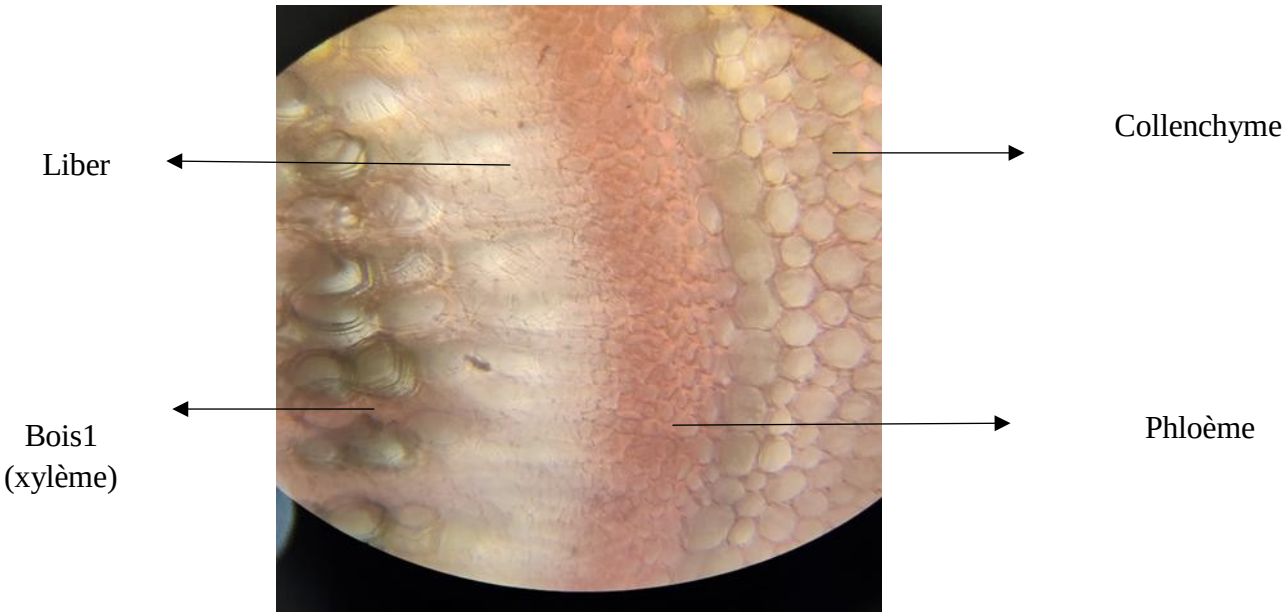


Figure 24 : Faisceau conducteur comprenant du phloème dans la partie supérieure et du xylème dans la partie inférieure, présence de procambium entre les deux. Le faisceau conducteur est entouré de fibres et de tissu parenchymateux

3. Identification morphologique des vers de terre étudies :

3.1. Echantionnage :

Les échantillons de vers de terre ont été collectés dans un jardin situé à Larbâa Nath Irathen, en région montagneuse (wilaya de Tizi Ouzou, Algérie). Le site est caractérisé par un sol argilo-limoneux, riche en matière organique, typique des zones tempérées humides.

La collecte a été réalisée manuellement en mars 2025, pendant une période de forte humidité favorable à l'activité des vers de terre. La méthode utilise est le Creusement manuel, Des blocs de sol de 25 cm x 25 cm ont été extraits sur une profondeur d'environ 20 cm. Tous les vers visibles ont été prélevés à la main.

3 .2 Identification morphologique :

En laboratoire, les spécimens ont été rincés à l'eau distillée pour éliminer les débris de sol. L'observation morphologique a été effectuée selon les étapes suivantes :

Observation à l'œil nu pour noter la couleur, la taille et le comportement.

Utilisation d'une loupe binoculaire (10x à 40x) pour examiner les détails externes (clitellum, soies, segments).

Pour certaines structures plus fines (pores génitaux, lobes), un microscope optique a été utilisé. Les vers ont été maintenus humides dans des boîtes de Petri tapissées de papier filtre humide pendant l'identification.

3.2.1. Les critères morphologiques d'identification *d'Eisenia fetida :*

L'espèce Eisenia fetida (Savigny, 1826) est un lombric épigé largement utilisé en lombricompostage en raison de sa tolérance aux fortes densités de matière organique et de sa reproduction rapide. Son identification morphologique repose sur des critères externes facilement observables. L'individu adulte Présente une longueur corporelle variant généralement de 60 à 130 mm, avec un diamètre compris entre 3 et 5 mm. Le corps est segmenté, de coloration rouge brunâtre à rouge violacé, présentant une alternance nette de bandes pigmentées et non pigmentées, conférant à l'espèce un aspect annelé ou tigré caractéristique. Le prostomium est de type épilobé, recouvrant partiellement le péristomium. Le clitellum, structure reproductrice visible chez les individus matures, est situé entre les segments 24 à 32 et forme une selle annulaire complète de teinte rose à orange pâle. Chaque segment porte huit soies disposées par paires, facilitant la locomotion. Contrairement à certaines espèces endogées ou anéciques, *Eisenia fetida* ne creuse pas de galeries profondes mais reste en surface,

dans les substrats riches en matière organique en décomposition. L'ensemble de ces caractères morphologiques, observés à l'œil nu et confirmés à l'aide d'une loupe binoculaire (grossissement 10x à 40x), permet une identification précise de l'espèce dans le cadre d'études écologiques ou agronomiques

Figure 25 : E. Fétida (photographie originale, 2025)

3.2.2. Les critères morphologiques d'identification de *terrestris lumbricus :*

Lumbricus terrestris est une espèce anécique de grande taille, largement répandue dans les sols tempérés, notamment dans les prairies, les champs cultivés et les jardins. L'identification morphologique de cette espèce repose sur plusieurs critères distinctifs. Le corps, de forme espacement est plus important que chez les espèces épigées. Sur le plan comportemental cylindrique, mesure entre 10 et 30 cm de long, avec un diamètre pouvant atteindre 10 mm chez les individus adultes. La pigmentation est uniforme, avec une coloration brun rougeâtre à violacée sur la face dorsale, tandis que la face ventrale est plus claire. Le prostomium est prolobé, c'est-à-dire qu'il forme un lobe bien visible qui dépasse légèrement le péristomium. Le clitellum, visible uniquement chez les individus sexuellement matures, est situé entre les segments 32 et 37 ; il se présente sous la forme d'une demi-selle, n'entourant que la partie dorsale du corps, et est généralement de teinte rosée ou brun clair. Chaque segment porte huit soies, disposées en quatre paires, mais leur, *L. terrestris* est une espèce fouisseuse qui creuse des galeries verticales profondes, et dont l'activité est principalement nocturne. Ces éléments morphologiques et écologiques permettent une identification fiable de l'espèce, notamment dans le cadre d'études sur la bioturbation et la structure des communautés lombriciennes.

Tableau 6 : comparaison entre *Lombrics et Eisenia*. Ces deux espèces Bien qu'appartenant à la même famille, mais présentent des différences notables en termes de morphologique, de comportement et d'écologie.

Critère	***Lumbricus terrestris***	***E : fétida***
Taille	**10 à 30 CM**	**6 à 13 CM**
Habitat	**Profondeur**	**Surface**
Couleur	**Rouge brun uniforme**	**Rayon rouge jeune**
Clitelium	**32-37 demi selle**	**24 – 32 selles complète**
Activités	**Lent, nocturne**	**Actif, rapide**

4.Méthodes d'extraction :

Parmi les nombreuses techniques d'extraction des huiles essentielles, la distillation est la méthode la plus ancienne et également là plus largement utilisée. D'autres techniques plus récentes ont été développées afin d'améliorer le rendement et la qualité des huiles essentielles extraites, de diminuer le temps d'extraction, de réduire la quantité de solvant utilisé et d'accélérer la cinétique d'extraction.

4.1. Hydrodistillation :

Dans un premier temps, l'extraction des huiles essentielles se fait en plongeant la matière première dans l'eau puis porter à ébullition, c'est l'hydro distillation .Par la suite, la matière première et l'eau sont séparées : soit l'eau est placée au fond de la cuve avant d'être portée à ébullition pour qu'un courant de vapeur d'eau traverse la matière première, c'est la vapo-hydro distillation ; soit la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur de l'alambic, technique dite vapo- distillation. Dans ces divers cas, la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle est dirigée vers un condenseur formé généralement d'un serpentin, à tubes parallèles, dans lequel circule de l'eau froide. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont acheminées vers un essencier ou vase florentin. Dans ce dernier, les deux liquides, non miscibles : l'eau aromatisée et l'huile essentielle. La séparation se fait ensuite par une simple décantation (*Besombes ,2009).*

4.1.1 Collecte des plantes et extraction :

Les feuilles de *Mentha piperita* ont été récoltées entre février et mars 2025. Pour procéder à l'hydro distillation, 50 g de matière végétale ont été mélangés avec 500 ml d'eau distillée, le tout étant placé dans un montage de type Clevenger et distillé pendant une durée de 3 heures. Les huiles essentielles, récupérées par décantation à la fin du processus de distillation, sont conservées à 4 °C dans de petits flacons en verre teinté, hermétiquement fermés, jusqu'à leur utilisation.

Le rendement en huile essentielle est défini comme le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante (AFNOR, 1987). Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé en conséquence.

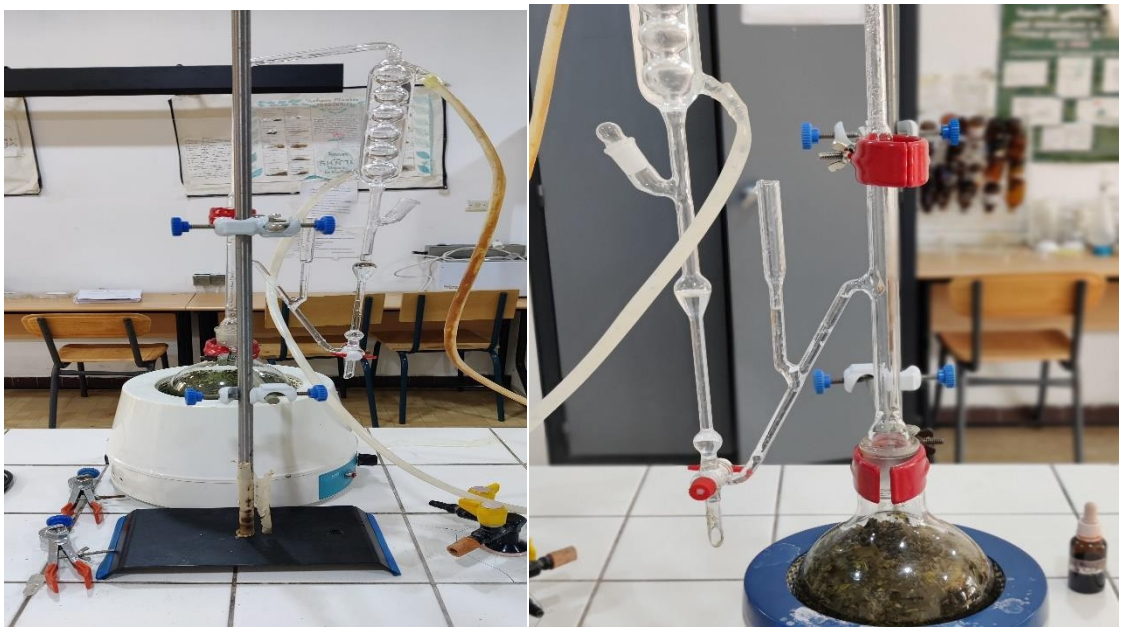


Figure 26 : l'appareil de l'hydro distillation avec un montage de CLEVENGER (photographie originale, 2025)**.**

4.1.1.1 Calcul du Rendement :

Définition du Rendement : Le rendement en huile essentielle est déterminé comme le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal traité (AFNOR, 1986).

Le rendement est exprimé en pourcentage :

Rendement (%) = poids de l'HE / poids de la plante x 100

5 Matériel nécessaire de la dilution d'huile essentielle (menthe poivrée) :

- Huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita).*
- Eau distillée (100 ml par dilution).
- Pipette ou seringue graduée.
- Flacons en verre ou plastique résistant (100 ml).
- Étiquettes.
- Agitateur.

Protocole de dilution d'huile essentielle de menthe poivrée (*mentha piperita)* :

Pour mesurer avec précision l'huile essentielle, il est recommandé d'utiliser une pipette ou une seringue graduée. Les volumes nécessaires pour chaque concentration sont indiqués ci-dessous :

- Pour une solution à 0,5 %, utiliser 0,5 ml d'huile essentielle.
- Pour une solution à 1 %, utiliser 1,0 ml d'huile essentielle.
- Pour une solution à 1,5 %, utiliser 1,5 ml d'huile essentielle.
- Pour une solution à 2,5 %, utiliser 2,5 ml d'huile essentielle.
- Pour une solution à 4,5 %, utiliser 4,5 ml d'huile essentielle.
- Pour une solution à 5 %, utiliser 5,0 ml d'huile essentielle.
- Pour une solution à 7 %, utiliser 7,0 ml d'huile essentielle.

Ensuite, compléter le volume total à 100 ml avec de l'eau distillée. Après avoir ajouté l'huile essentielle et l'eau distillée dans le flacon, agiter vigoureusement à l'aide d'un agitateur afin d'assurer un mélange homogène.

6 **Application de dilutions d'huile essentielle sur des vers de terre dans le sol :**

6.1 Matériel nécessaire :

- Huile essentielle de menthe poivrée (diluée selon les concentrations souhaitées : 0%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2.5%, 4.5%, 5%, 7%).
- Eau distillée.
- 100 g de terre sèche et tamisée (type terre agricole ou standard OECD).
- Boîtes en plastique ou en verre (au moins 8, une pour chaque concentration).
- Pipettes graduées ou seringues (pour appliquer précisément 20 ml).
- 10 vers de terre par boîte.

Gants, balance, étiquettes, carnet de suivi

- **Préparation des boîtes de test :**
- Peser 500 g de terre sèche et homogène, puis la déposer dans chaque boîte test.
- Étiqueter chaque boîte avec la concentration correspondante (0%, 0.5%, etc.).

Figure 27 : disposition des boites contenant de la terre (photographie originale ,2025).

- **Application des solutions :**
1. Préparer les solutions d'huile essentielle selon les concentrations choisies (voir protocole précédent).
2. Appliquer 20 ml de solution uniformément sur les 100 g de terre dans chaque boîte à l'aide d'une pipette ou seringue.
3. Bien mélanger la terre pour répartir la solution uniformément (avec spatule ou baguette stérile).

Figure 28 : Boites remplis de terres avec les concentrations d'huile essentielle (photographie originale ,2025).

- **Introduction des vers de terre :**
- Placer 10 vers de terre (mêmes espèce, taille et âge si possible) dans chaque boîte.
- Couvrir les boîtes (couvercle perforé ou tissu pour laisser passer l'air).
- Placer à température ambiante (20–22°C), dans un environnement sombre et humide pour simuler des conditions naturelles.

Figure 29 : Mise en place des vers de terre a la surface du sol dans des boites (photographie originale ,2025).

- **Suivi et observations :**

1. Observer les vers de terre à intervalles réguliers (24 h, 48 h, 72 h, etc.).

2. Critères d'observation :

Mortalité : Noter le nombre de vers décédés.

Mobilité : Évaluer le mouvement des vers dans les boîtes.

Comportement : Observer les retraits et l'activité en surface.

État physique : Vérifier la présence de lésions ou de décolorations.

- **Sécurité et précautions :**

. Manipuler les huiles essentielles avec des gants et dans un espace bien ventilé.

. Bien agiter les solutions avant application

- Expression des résultats :

Calcul de la mortalité :

Pour estimer la mortalité des vers, on dénombre les vers s morts, le dénombrement est réalisé toutes les 24 heures pendant une période de 3 jours.

Le taux de mortalité est défini comme le rapport entre le nombre de morts sur une période donnée et le nombre total d'individus dans une population, multiplié par 100 pour obtenir un pourcentage. Mathématiquement, cela s'exprime ainsi :

Taux de mortalité = {Nombre de morts/ {Nombre total d'individus X100

Chapitre 4 :

Résultats et discussion

2. Résultats :

Ce chapitre présente une analyse approfondie des résultats obtenus lors des expérimentations sur l'effet des extraits de l'huile essentielle de menthe poivrée sur les vers de terre. Les résultats sont illustrés à l'aide de plusieurs graphiques (fig.30.31.32.33.34.35.36.37.)) et tableaux (Tab 7 et Tab 8) qui permettent de visualiser de manière claire et précise l'impact des différentes concentrations de l'extrait sur la mortalité ainsi que sur la durée de développement des vers de terre.

Tableau 7 : Comportement des vers de terre après 24 et 48 heures d'exposition à l'huile essentielle

Concentration observée (%)	**Temps(h)**	**Comportements**	**Score**
0%	24h	Aucun changement Notable	0
	48h	Aucun changement Notable	0
0.5%	24h	Aucun changement Notable	0
	48h	Aucun changement notable	0
1%	24h	Aucun changement notable	0
	48h	Aucun changement notable	0
1.5%	24h	Aucun changement notable	0
	48h	Aucun changement notable	0
2.5%	24h	Aucun changement notable	0
	48h	Mouvements ralentis	1
4.5%	24h	Aucun changement notable	1

	48h	Difficulté dans les mouvements	2
5%	24h	Déplacements limités observés	2
	48h	Observation de paralysie partielle	3
7%	24h	Pas de mobilité, Accompagnée d'un stress	2
	48h	Mortalité totale observée, avec rigidité des vers	3

1. Comportements Normaux (score = 0) : Observations n'indiquant aucun changement, comportement habituel.
2. Comportements Légèrement Perturbés (score = 1) : Changements mineurs, mouvements habituels, mais légèrement réduits.
3. Comportements Anormaux (score = 2) : Difficultés notables dans les mouvements, comportement lent, stress visible.
4. Mortalité (score = 3) : Présence de mortalité, comportements rigides ou presque nuls.

Interprétation des Scores :

1. Un score de 0 indique que les concentrations faibles (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2,5) n'ont pas eu d'effet notable sur les comportements ou la mortalité.
2. Un score de 1 commence à montrer des effets légers sur le comportement, notamment à 2,5% et 4,5% avec des mouvements ralentis.
3. À partir de 5% de concentration, on observe des scores plus élevés, indiquant un impact significatif sur la mortalité et les comportements, culminant à un score de 3. À 7% de concentration où la mortalité est élevée et les comportements presque nuls.

- Ce graphique (fig.30) met en évidence les effets de la concentration de la substance sur la mortalité et la survie des vers de terre, et identifier à quel moment (24h ou 48h) les effets sont les plus marqués.

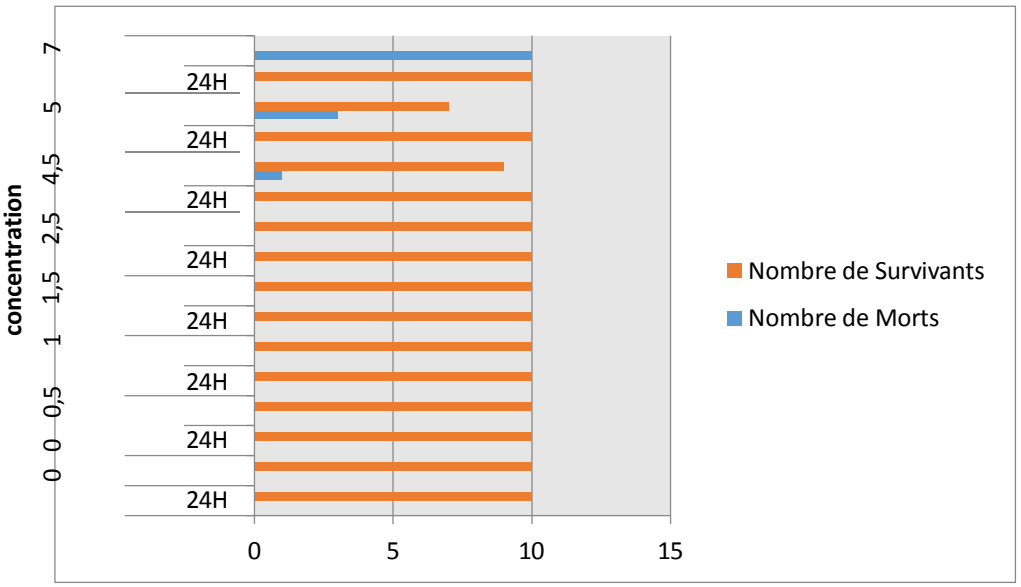


Figure 30 : Comparaison du Nombre de Morts et de Survivants selon la Concentration et le Temps d'Exposition.

L'analyse des données révèle une relation directe entre la concentration de l'extrait et son impact sur la mortalité des vers de terre. En effet, on observe qu'avec l'augmentation de la concentration, le nombre de morts augmente tandis que le nombre de survivants diminue. À faible concentration (0%,0.5%,1.5%, 2 % et 4.5% à 24h) la majorité des vers de terre survivent, ce qui suggère que la substance n'est pas immédiatement toxique à faible dose. Cela peut être interprété comme l'absence d'un effet toxique immédiat à faible concentration.

En revanche, à forte concentration, la mortalité devient très élevée, indiquant un effet toxique marqué de la substance testée. Les valeurs mesurées après 24 heures et 48 heures d'exposition (5% ,7%) suggèrent que la toxicité de la substance pourrait être progressive plus la durée d'exposition est longue, plus la mortalité augmente.

• Ce graphique (fig.31) vous permet d'identifier une éventuelle corrélation entre la concentration et l'impact sur les comportements observés, vous aidant à visualiser comment les comportements s'aggravent avec l'augmentation de la concentration.

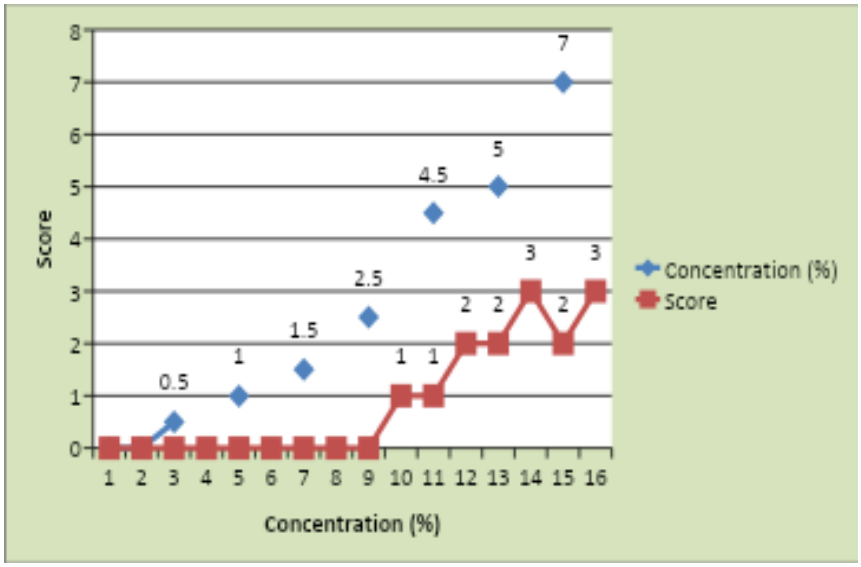


Figure 31 : corrélation entre la concentration et l'impact sur les comportements observés.

1. Absence d'effet à faibles concentrations : À des concentrations de 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 %, et 2,5 %, le score reste constant à zéro. Cela indique que, dans cette plage de concentrations, la substance n'exerce aucun effet mesurable sur les vers de terre testés. Il est possible que ces concentrations soient inférieures au seuil de toxicité ou d'effet de la substance.

2. Début des effets à des concentrations modérées : À partir de 4,5 %, il est observé un score de 1, ce qui suggère qu'un effet commence à se manifester à cette concentration. Ce score indique une légère réaction ou un impact des vers de terre sur leur comportement ou leur survie.

3. Augmentation de l'effet à des concentrations plus élevées : Les scores augmentent avec les concentrations de 5 % (score de 2) et 7 % (score de 2). Il est intéressant de noter que le score reste constant entre 5 % et 7 %, indiquant que l'augmentation de la concentration au-delà de 5 % n'entraîne pas d'augmentation proportionnelle de l'effet observé.

L'analyse des scores en fonction des concentrations suggère une relation non linéaire entre la concentration de la substance et son impact. Les résultats indiquent qu'à faibles concentrations, la substance n'a pas d'effet mesurable, tandis qu'à des concentrations modérées, un effet commence à se manifester. Toutefois, au-delà d'une certaine concentration, l'effet semble se stabiliser. Cette information pourrait être cruciale pour déterminer le seuil de toxicité et pour de futures études sur l'impact de la substance sur les organismes évalues .

Tableau 8 : Taux de mortalité en fonction de la concentration

Concentration(%)	**Taux de mortalité**
0%	0
0.5%	0
1%	0
1.5%	0
2.5%	0
4.5%	10
5%	30
7%	100

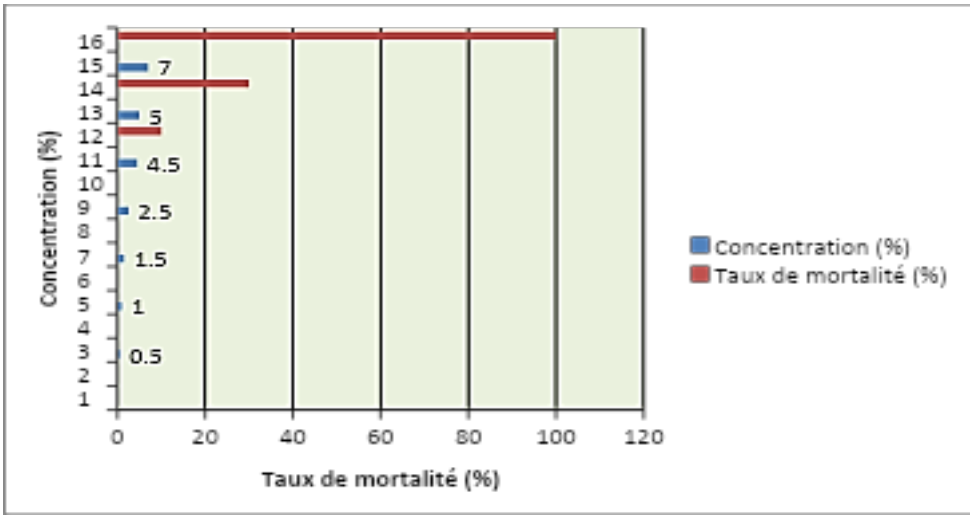


Figure 32 : Impact de la Concentration sur le Taux de Mortalité

Ce graphique à barres groupées présente les taux de mortalité (en pourcentage) pour chaque niveau de concentration. Chaque barre représente le taux de mortalité associé à une concentration spécifique de la substance.

1. **Absence de mortalité à faibles concentrations (0 % à 2,5 %) :**

Pour les concentrations de 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 %, et 2,5 %, le taux de mortalité reste constant à 0 %. Cela indique que, dans cette plage de concentrations, la substance n'a pas d'effet toxique mesurable sur les organismes. Les barres correspondantes sont toutes positionnées sur l'axe des x, montrant clairement l'innocuité de la substance à ces niveaux.

2. **Début des effets toxiques à 4,5 % :**

À une concentration de 4,5 %, le taux de mortalité augmente à 10 %. Le graphique montre une barre qui s'élève au-dessus de zéro, signalant que la substance commence à avoir un effet néfaste

sur les organismes à partir de cette concentration. Cela indique un début d'effet toxique qui mérite une attention particulière.

1. **Augmentation significative à 5 % :**

À une concentration de 5 %, le taux de mortalité grimpe à 30 %. Cette barre est considérablement plus haute, soulignant une relation dose-réponse claire où, avec l'augmentation de la concentration, la mortalité augmente également. Cela indique que la substance a un effet toxique accru à cette concentration.

2. **Mortalité totale à 7 % :**

À la concentration de 7 %, le taux de mortalité atteint 100 %. La barre correspondante est très élevée, représentant une mortalité totale des organismes exposés. Cela suggère que cette concentration est un seuil critique où la substance devient hautement toxique et entraîne la mort de tous les individus exposés. Le graphique à barres groupées permet de visualiser efficacement les relations entre la concentration de la substance et les taux de mortalité des vers de terre. Les données montrent qu'à faible concentration, il n'y a pas d'effet toxique, tandis qu'à des concentrations plus élevées, une augmentation significative du taux de mortalité est observée, culminant en une

mortalité totale à 7 %. Cette représentation graphique facilite la compréhension des effets de la substance et est essentielle pour établir des recommandations de sécurité concernant l'exposition à cette substance.

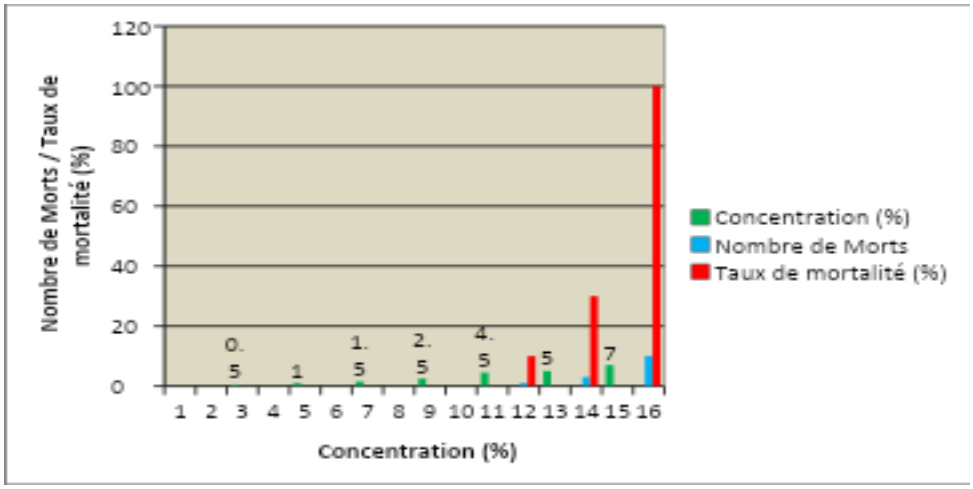


Figure 33 : Impact de la Concentration sur le Nombre de Morts et le Taux de Mortalité.

.

L'histogramme (fig.35) représente deux séries de données pour chaque niveau de concentration : une barre pour le nombre de morts (en bleu) et une barre pour le taux de mortalité (en rouge). Chaque groupe de barres correspond à une concentration spécifique de la substance, facilitant la comparaison visuelle entre les deux variables.

1. **Absence de mortalité à faibles concentrations (0 % à 2,5 %) :**

Pour les concentrations de 0 %, 0,5 %, 1 %, 1,5 %, et 2,5 %, le nombre de morts et le taux de mortalité restent tous deux à zéro. Les barres correspondantes sont alignées sur l'axe des x, ce qui indique que la substance n'a pas d'effet toxique à ces niveaux. Cela suggère que ces concentrations sont sûres pour les vers de terre testés.

2. **Début des effets toxiques à 4,5 % :**

À une concentration de 4,5 %, il y a un décès enregistré (1 mort), avec un taux de mortalité de 10

%. L'histogramme montre une barre rouge qui commence à s'élever au-dessus de zéro, indiquant que la substance commence à avoir un effet néfaste à partir de cette concentration. Le taux de mortalité correspondant est également visible, bien qu'il reste relativement faible.

3. Augmentation significative à 5 % :

À une concentration de 5 %, le nombre de morts augmente à 3, et le taux de mortalité grimpe à 30

%. Les barres deviennent plus prononcées, soulignant une relation dose-réponse claire. Cela indique que l'augmentation de la concentration de la substance entraîne une mortalité accrue, reflétant un effet toxique plus fort.

4. Mortalité totale à 7 % :

À la concentration de 7 %, le nombre de morts atteint 10, avec un taux de mortalité de 100 %. L'histogramme montre une barre rouge qui atteint son maximum, représentant la mortalité totale des organismes exposés. Cela indique un seuil critique où la substance devient hautement toxique, entraînant la mort de tous les individus testés. L'histogramme groupé permet de visualiser deManière claire et efficace les relations entre la concentration de la substance, le nombre de morts et le taux de mortalité des organismes.

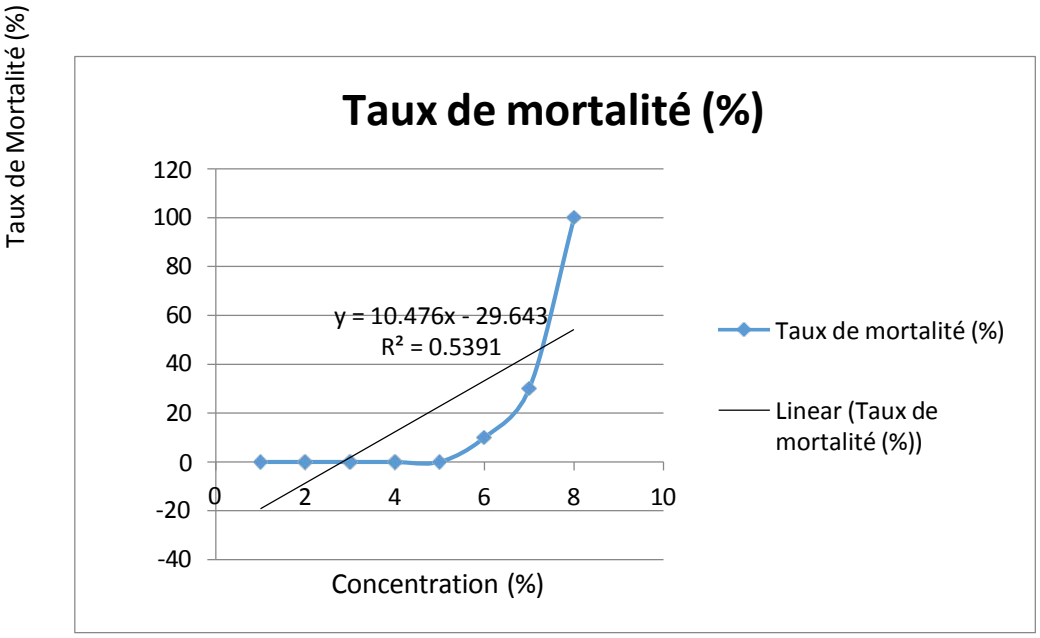


Figure 34 : Analyse de la Régression du Taux de Mortalité en Fonction de la Concentration.

Pour les concentrations allant de 0% à 2.5%, il n'y a pas de mortalité observée. À 4.5%, il y a un début de mortalité (10%).

Le taux de mortalité augmente progressivement pour atteindre 30% à 5%.

À 7%, le taux de mortalité atteint 100%, indiquant que cette concentration est létale pour la population testée.

L'équation de régression (y = 10,47x - 29,64) montre une relation positive entre la concentration (x) et le taux de mortalité (y). Cela signifie que lorsque la concentration d'une substance augmente, le taux de mortalité augmente également.

Le DL50 calculé à environ 5.29% indique que, selon l’équation une concentration de 5.29 de la substance est nécessaire pour entraîner une mortalité de 50% de la population de vers testée. C'est un chiffre critique en toxicologie, car il donne une idée de la toxicité de la substance.

Le coefficient de détermination (R^2 = 0,539) indique que 53,9% de la variation du taux de mortalité peut être expliquée par la concentration. Cela suggère que bien que la concentration ait un effet significatif sur la mortalité, d'autres facteurs peuvent également influencer les résultats.

Pour des concentrations supérieures à 5.29%, les risques de mortalité augmentent de manière significative. Cela peut être crucial pour la gestion des risques dans des environnements où la substance en question est utilisée ou exposée, que ce soit dans le domaine industriel, environnemental, ou médical.

Analyse statistique des données (ANOVA) :

L'analyse statistique réalisée à l'aide du logiciel R a permis d'évaluer l'influence de deux facteurs le temps d'exposition et la concentration de l'extrait testé ainsi que leur interaction sur la mortalité de l'organisme cible.

Les résultats obtenus montrent que la concentration exerce un effet hautement significatif sur la mortalité (p-value = 0.0202), traduisant une relation dose-dépendante : plus la concentration de l'extrait est élevée, plus la mortalité augmente de manière marquée. Ce constat corrobore les hypothèses selon lesquelles une dose plus importante d'extrait intensifie l'action biocide.

En revanche, le temps d'exposition seul n'a pas d'impact statistiquement significatif (p-value = 0.1144). Ainsi, pour les deux durées testées (24 heures et 48 heures), la mortalité observée ne varie pas de façon substantielle. Ce résultat suggère que, dans les conditions expérimentales de l'étude, la durée d'exposition ne suffit pas à modifier notablement l'effet toxique déjà induit par la concentration.

De plus, l'interaction entre le temps d'exposition et la concentration n'est pas significative, indiquant que l'effet de la concentration est similaire quel que soit le temps d'exposition appliqué. Cette absence d'interaction est également confirmée par le graphique d'interaction généré sous R, où les courbes pour 24h et 48h suivent une évolution parallèle sans croisement manifeste.

Ces observations soulignent que la mortalité est principalement conditionnée par la concentration de l'extrait, et que ni la prolongation modérée du temps d'exposition ni l'interaction des deux facteurs n'entraînent de variation supplémentaire significative.

Ces résultats confirment ainsi l'efficacité dose-dépendante de l'extrait étudié et fournissent des indications précieuses pour ajuster les concentrations optimales lors d'applications futures.

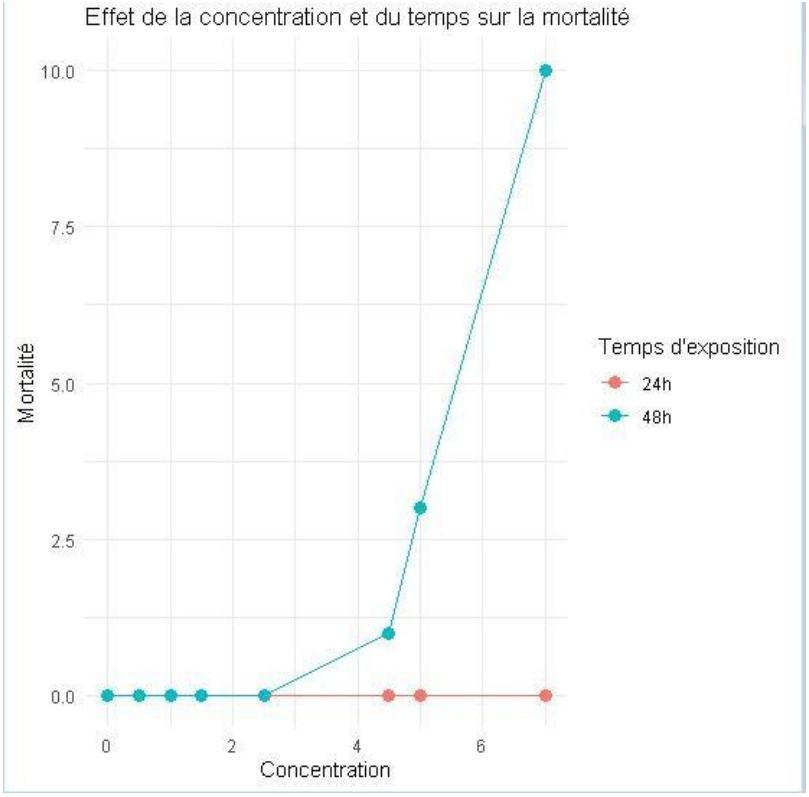


Figure 35 : Effet du temps et de la concentration sur la mortalité

Discussion :

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'impact de l'huile essentielle de menthe poivrée sur la toxicité envers les vers de terre, organismes essentiels à la qualité et à la structure des sols agricoles. La question centrale posée est : dans quelle mesure l'utilisation de cette huile essentielle comme bio pesticide peut-elle affecter ces organismes ? Nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle l'application d'huile essentielle de menthe poivrée influencera négativement la survie et l'activité des vers de terre, tout en possédant un potentiel insecticide contre les nuisibles.

Les résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle de menthe poivrée présente une toxicité variable envers les vers de terre, selon la concentration appliquée. À faibles doses (0,5 %, 1,5 %, 2,5 %), aucune mortalité n'a été observée, mais des modifications comportementales telles qu'une agitation accrue et une fuite vers les couches plus profondes du sol ont été notées. En revanche, à des concentrations plus élevées (5 % et 7 %), la mortalité a considérablement augmenté, atteignant 100 % à 7 %. Ces résultats suggèrent que bien que l'huile essentielle possède des propriétés insecticides, elle peut également avoir des effets délétères sur des organismes non ciblés, ce qui confirme notre hypothèse initiale.

Ces résultats corroborent les travaux antérieurs qui ont mis en évidence les effets toxiques d'huiles essentielles sur des organismes du sol. Par exemple, des recherches sur l'huile essentielle de thym et de citronnelle ont également révélé des toxicités modérées à élevées envers des espèces de collemboles et de nématodes (*Amer et Mehlhorn, 2006 ; Govindarajan* et *al, 2011).* Ces études montrent que les huiles essentielles, bien qu'elles soient souvent considérées comme des alternatives naturelles aux pesticides chimiques, peuvent également nuire à la biodiversité du sol, remettant en question leur utilisation sans une évaluation rigoureuse des risques. Et aussi l’étude de Huang et al. (2013) ont démontré que l’huile essentielle d’eucalyptus provoquait une baisse significative de l’activité enzymatique chez Eisenia fetida, une espèce commune de ver de terre. De même, Kim et al. (2015) ont rapporté une toxicité modérée de l’huile essentielle de tea tree sur les nématodes du sol. Dans une étude comparative, Singh et al. (2012) ont observé que les huiles essentielles de neem et de citronnelle réduisaient la densité des microarthropodes et affectaient la structure trophique du sol, ce qui démontre l’effet potentiellement perturbateur de ces substances sur l’écosystème édaphique.

Il est important de signaler certaines limites de cette étude. Les tests ont été réalisés en

conditions contrôlées, ce qui ne permet pas de reproduire les interactions complexes présentes dans un environnement naturel. De plus, la recherche s'est concentrée sur une seule espèce de vers de terre, ce qui limite la généralisation des résultats à d'autres espèces ou à d'autres contextes écologiques. Une exploration plus large, incluant diverses espèces et conditions environnementales, serait nécessaire pour mieux comprendre les effets des huiles essentielles sur la biodiversité du sol.

Les implications de cette recherche sont significatives pour l'agriculture durable. L'utilisation d'huiles essentielles comme alternatives aux pesticides chimiques doit être évaluée avec précaution, car elles peuvent affecter des organismes bénéfiques tels que les vers de terre, qui jouent un rôle crucial dans le maintien de la fertilité du sol. Les résultats de cette étude fournissent

des informations précieuses sur les effets potentiels des huiles essentielles, soulignant la nécessité de prendre en compte la biodiversité du sol lors de l'évaluation des bios pesticides.

Il serait pertinent de mener des recherches supplémentaires pour explorer les effets d'autres huiles essentielles et leur impact sur divers organismes non cible, notamment les micro-organismes du sol et les petites faunes aquatiques. De plus, des études devraient se concentrer sur les effets cumulatifs de l'exposition à long terme sur les vers de terre et d'autres organismes, afin d'élaborer des recommandations sur l'utilisation sécurisée des bios pesticides en agriculture.

En conclusion, cette étude met en lumière le potentiel toxique de l'huile essentielle de menthe poivrée envers les vers de terre, en fonction des concentrations. Les résultats soulignent l'importance d'une évaluation rigoureuse des risques associés à l'utilisation de bios pesticides d'origine naturelle pour assurer une protection adéquate de la biodiversité du sol. En éclairant les effets de l'huile essentielle de menthe poivrée sur les vers de terre, cette recherche contribue à enrichir la compréhension des interactions entre les bios pesticides et les organismes du sol, favorisant ainsi une agriculture durable.

Conclusion :

Conclusion :

L’huile essentielle de menthe poivrée, extraite par hydrodistillation à partir de *Mentha piperita*, constitue une ressource naturelle aux propriétés bioactives intéressantes. Le rendement obtenu au cours de cette étude (environ 5 %) est satisfaisant et confirme le potentiel de cette plante en tant que matière première pour une production durable et standardisée d’huile essentielle. De plus, les caractéristiques physico-chimiques de l’huile obtenue (couleur, odeur, pH, densité) respectent les critères établis par les normes AFNOR, garantissant ainsi la qualité du produit pour des applications biologiques.

L’expérimentation menée sur les vers de terre, reconnus comme bioindicateurs fiables de la qualité des sols, a mis en évidence des effets comportementaux et physiologiques en lien avec l’exposition à l’huile essentielle de menthe poivrée. À faibles concentrations (0,5 %, 1,5 %, et 2,5 %), aucune mortalité n’a été observée, mais des modifications comportementales telles qu'une augmentation de l'agitation et une fuite vers des couches plus profondes du sol ont été notées. En revanche, aux concentrations plus élevées (5 % et 7 %), la mortalité a augmenté de manière significative, atteignant 30 % à 5 % et 100 % à 7 %. Ces résultats indiquent une altération de l’activité neuromusculaire des vers, tout en suggérant la possibilité d’un usage ciblé et respectueux des organismes non nuisibles aux faibles doses.

Ces résultats suggèrent que l’huile essentielle de menthe poivrée pourrait représenter une alternative écologique aux produits phytosanitaires de synthèse, notamment pour la régulation de certains organismes du sol ou comme répulsif naturel dans des pratiques agricoles durables. Cependant, il est essentiel de considérer les effets sublétaux observés, qui, bien qu’utiles dans un contexte de biocontrôle, peuvent perturber l’équilibre biologique du sol si leur utilisation n’est pas correctement encadrée.

De plus, la variabilité des réponses biologiques selon la concentration, la durée d’exposition et la sensibilité des organismes étudiés impose de poursuivre les recherches. Il serait pertinent d’étudier les mécanismes d’action de cette huile au niveau cellulaire et moléculaire (action sur le système nerveux, production de stress oxydatif, perturbation enzymatique, etc.), afin de mieux comprendre les effets observés.

Enfin, des expérimentations à plus grande échelle, dans des conditions environnementales réalistes (sols agricoles, champs, cultures intégrées), permettraient de valider les résultats obtenus en laboratoire. Il conviendrait également d’élargir l’étude à d’autres groupes d’organismes du sol (collemboles, nématodes, arthropodes) pour évaluer l’impact écologique global.

À notre connaissance, aucune étude antérieure n'a analysé l'effet de l'huile essentielle de menthe poivrée sur les vers de terre, ce qui rend notre recherche novatrice et pertinente pour mieux comprendre les interactions entre cette huile et les organismes du sol.

En somme, cette étude ouvre des perspectives prometteuses pour l’utilisation raisonnée de l’huile essentielle de menthe poivrée dans des approches agroécologiques et de gestion durable des sols. Elle constitue une première étape vers une meilleure compréhension de ses effets écologiques et vers l’élaboration de stratégies d’application efficaces et sûres.

Références bibliographiques

Les références bibliographiques :

1. Abbas, K., & Abdelguerfi, A. (2005). Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. Fourrages, (184), 533 –546
2. AFNOR(2021) https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/iso-92352021/matieres-premieres-aromatiques-naturelles-vocabulaire/xs137655/240275
3. Al-Sarar, A.S. 2014. Chemical composition, adulticidal and repellent activity of essential oils from Mentha longifolia L. and Lavandula dentata L. against Culex pipiens L. Journal of Plant Protection and Pathology 5: 817-826.
4. Ansari, M.A; Vasudevan, P ; Tandon, M ; & Razdan, R.K. 2000. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (Mentha piperita) oil. Bioresource Technology 71(3) 267- 271.
5. Association française de normalisation (AFNOR). 1987. Agroalimentaire : comment garantir la qualité. Paris-La Défense□168p□
6. Baba Aissa F, 1999.Encyclopedie des plantes utiles (flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afriques, d'Orient et d'occident, Ed. Edas178p.
7. BACHELIER G, 1963-la vie animale dans le sol O.R.S.T.O.M. PARIS, 285p.
8. BACHELIER G., 1978- La faune des sols son écologie et son action. O.R.S.T.O.M, Paris, 400p.
9. Baranitharan, M; Sridhar, N. 2020. An overview of TOXICOLOGY. 140p.
10. Baudoux D., 2002. L'Aromathérapie. Se soigner par les huiles essentielles (Amyris, Bruxelles ed 231p.
11. Benazzeddine S. (2010). Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis- à - vis de Sitophilus oryzae (*Coleoptera; Curculionidae) et Tribolium confusum (Coleoptera; Curculionidae*). Ecole nationale supérieure agronomique El- Harrach d'Alger, Algérie, 102p.
12. Besombes, C. (2009) Thèse de Doctorat : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées.Université de La Rochelle. France. -289p.
13. Linnaeus, C. 1753. Species Plantarum: Exhibentes plantas rite cognitas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Stockholm: Impensis Laurentii Salvii. Vol. 2, p. 561–

1200

14. Bonnafous C. (2013). Traité scientifique Aromathérapie- Aromatologie et aromachologie. Dangles ed., .522p.
15. Bouché, M.B. (1972). Lombriciens de France: Ecologie et Systématique. INRA, Annales de Zoologie Écologie Animale, 671 p.
16. Bouché, M.B. (1977). Strategies lombriciennes. Ecological Bulletins, 25: 122–132.
17. Bouras, M. (2018) Thèse de Doctorat : Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Université Badji mokhtar-annaba. Algérie.184p.
18. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2eme édition. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 1120 p.
19. Bruneton, J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 5ème Édition. Éditions Tec & Doc Lavoisier, Éditions médicales internationales. 1488 p.
20. Carnesecchi, S.2002 ; Bras-Gonçalves, R. ; Bradaia, A. ; Zeisel, M. ; Gossé, F. ; Poupon,
21. Chassaing. V. 2006. L'aromathérapie : les huiles essentielles au service du cheval, 4p.
22. Cluzeau D., PERES G et THOMAS F., 2004 - L'importance de la biodiversité du sol : le cas du ver de terre. Dossier Vers de terre, extrait de la revue TCS n° 27, Mars / Avril / Mai 2004
23. Curry J. P., 1998. Factors affecting earthworm abundance in soils. In: Edwards, C. A. (eds), Earthworm Ecology. Boca Raton, St. Lucie Press.389 p.
24. Curzerene, trans-β-elemenone, and γ-elemene.2018. as effective larvicides against Anopheles subpictus, Aedes albopictus, and Culex tritaeniorhynchus : toxicity on non-target aquatic predators. Environnemental Science and Pollution Research 25: 10272-10282.
25. Duval, L. 2012. Les huiles essentielles à l'officine. Thèse de Doctorat. L'UFR Santé de l'Université de ROUEN https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00713158 .
26. Edwards, C. A. et Bohlen, P. J., 1996. Biology and Ecoloy of Earthworms 3rd ed. Chapman and Hall, London, 426p.
27. M.F. ; Raul, F. (2004). Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5- fluorourcil efficacy on human colon tumor xenografts. Cancer Lett. 215(1), 53-59.
28. Elumalai, K; Dhanasekaran, S; Anandan, A ; Krishnappa, K ; Gokulakrishnan, J. &

Elangovan, A. 2012. Mosquitocidal activities of Abrus precatorius L. (Fabaceae) against chickungunya vector, Aedes aegypti (L.) and Japanese encephalitis vector, Culex tritaeniorhynchus (Giles) (Diptera: Culicidae). International Journal of Current Life Sciences 2(1) : 31-38.

29. Evans, A., C., et Guild W., J., 1948. Studies on the relationships between earthworms and soil fertility. IV - On the life cycles of some British Lumbricidae. V - Field populations. Ann. Appl. Biol., 35, (4) : 485-493.
30. Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences. Universités d'Avignon et des pays de Vaucluse (France) et l'Ecole Nationale d'ingénieurs de Gabes(Tunisie) ,144p.
31. Franchomme, P. ; Pénoël, D. (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p.
32. François C., 2012. Les plantes et leurs noms « Histoire insolites ». 152 p.
33. Garneau, F.X. (2005). Le matériel végétal et les huiles essentielles. Chicoutimi : Laseve-UQAC.56 pages
34. Gayda A. (2013). Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie. Thèse de Doctorat en pharmacie, Universités Toulouse 3- Paul Sabatier**, 119p**
35. Gokulakrishnan, J ; Elumalai, K ; Dhanasekaran, S ; Anandan, A. &amp ; Krishnappa, K. 2013. Pupicidal and repellent activities of Pogostemon cablin essential oil chemical compound against medically important human vector mosquitoes. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 3(1) : 26-31.
36. Govindarajan, M. 2011b. Ovicidal and repellent properties of Coccinia indica Wight and Arn. (Family: Cucurbitaceae) against three important vector mosquitoes. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 15: 1010-1019.
37. Govindarajan, M., Rajeswary, M., Senthilmurugan, S., Vijayan, P., Alharbi, N.S., Kadaikunnan, S., Khaled, J.M. & Benelli, G. 2017. Acute toxicity, histopathological effects, and mosquitocidal activity of Cassia occidentalis-synthesized silver nanoparticles. Parasitology Research, 116(3), 913–925.
38. Hammami S. Et Abdesselem M., 2005. Extraction et analyse des huiles essentielles de la

menthe poivrée de la région d'Ouargla. Thèse Ing., Univ., Blida 69p.

39. Huang, Y., Tan, J., Kini, R. M., & Ho, S. H. (2013). Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against Sitophilus zeamais Motsch. Journal of Stored Products Research, 33(4), 289–298.

.

40. Hurtel, J.M. (2006). Noix de muscade, *Myristica fragrans*, fiche médicale sur cette épice. Aphrodisiaque et son huile essentielle antiseptique. Phytomania : phytothérapie, plantes : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse, 200p

41. Keyal, U., Huang, X. & Bhatta, A.K. 2016. Antifungal effect of plant extract and essential oil. Chinese Journal of Integrative Medicine 23(3) : 233-239.

42. Kimball D.A., 1999: Citrus Processing: A Complete Guide (Chapman & Hall Food Science Book). 2nd Edition, Publisher : Springer, 460p.

43. Kumar, S., Wahab, N. & Warikoo, R. 2011a. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti L*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 1: 85-88.154

44. Kim, H. K., Lee, S. E., & Ahn, Y. J. (2015). Nematicidal activity of essential oils from aromatic plants against Bursaphelenchus xylophilus. Pest Management Science, 71(4), 591–598.

45. Lahlou, M. 2004. Methods of Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils. Phytotherapy Research 18 : 435-448.

46. Lardry J.-M. & Haberkorn V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielle (Kinesither Rev 7(61) :14-17.

47. Lee K.E, 1985. Earthworms - Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use".Academic Press, Sydney. 411p.

48. Legault, J.; Dahl, W.; Debiton, E.; Pichette, A.; Madelmont, J.C. (2003). Antitumor activity of balsam fir oil: Production of reactive oxygen species induced by a-humulene as possible mechanism of action. Planta Med. 69, 402-407.

49. Marimuthu G; Mohan R; Sengamalai S; Periasamy V; Naiyf S A; Shine K ; Jamal M ; Giovanni B ; 2017. Larvicidal activity of Blumea eriantha essential oil and its components

against six mosquito species, including Zika virus vectors. 116(4) ,1175-1188.

50. MORIN R, 1999- Exploitation et élevage des vers de terre pour le marché des appâts vivant, Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Quebec,13p,

51. Patrick B ; Aboulkacem L ; Jean-Luc H ; Toussaint Bengone Ndong et Frédéric F ;(2017) Rôles et caractéristiques morphologiques du ver de terre Eudrilus eugeniae, Edition Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 21 (2), 160-170.

52. Pefiffner L, 2013 - Regenwürmer baumeister fruchtbarer böden. 6p.

53. Pelosi. C, 2008- Modélisation de la dynamique d'une population de vers de terre *lumbricusterrestri*s au champ contribution à l'étude de l'impact de systèmes de culture sur les communautés lombriciennes. Paris.95p.

54. Piochon, M. (2008) Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne

55. Pourmortazavi, S.M. & Hajimirsadeghi, S.S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. Journal of Chromatography 1163 : 2-24.

56. Proust, B. (2006). Petite Géométrie des Parfums. Éditions du Seuil. Paris. 126 p.

57. Publication inc. 435 p. Benazzeddine S. (2010). Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis- à- vis *de Sitophilus oryzae (Coleoptera ; Curculionidae) et Tribolium confusum (Coleoptera ; Curculionidae).* Ecole nationale supérieure agronomique El- Harrach d'Alger

58. Razafindrakoto, S. D. (2013). Étude des interactions plante–vers de terre *(Dichogaster saliens)* dans les cultures de riz et de l'éleusine. Mémoire de fin d'études, Université de Madagascar, en collaboration avec le FOFIFA et l'IRD, 87 p

59. Richard, H. (1992). Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. 339 p.

60. Robert, G. (2000). Les Sens du Parfum. Osman EroyllesMultimedia. Paris. 224 p.

61. Satchell J.E., 1967. Lumbricidae. In Soil Biology. (Eds., A. Burges and F. Raw): 259-322.

62. Singh, P. & Pandey, A.K. 2018. Prospective of essential oils of the genus mentha as biopesticides: à review. Frontiers in Plant Science 9 : 129p.

63. Singh, S., Prakash, S., & Rai, M. (2012). Insecticidal and antifungal activity of Cymbopogon citratus essential oil. Journal of Pest Science, 85(3), 453–460.

64. Vigot M et Cluzeau D. (2014), Les vers de terre (Guide pratique). Chambre régionale d'Agriculture de Poitou. Charentes, en collaboration avec la chambre d'agriculture de la

vienne et l'observatoire participatif des vers de terre (Université de Rennes), la chambre d'agriculture de Nouvelle-Aquitaine, 20p.

65. Zybak, O. (2000). Fiche technique : Huile essentielle de menthe poivrée (Mentha x piperita) [Document non publié]. Cité dans Ferkous, I. (2016). Les huiles essentielles et l'aromathérapie : Cas de la menthe poivrée (Mentha x piperita) (Mémoire de Master, Université Mentouri Constantine

Sites web :

www.phytomania.comhttps://www.google.com/search?q=LNI++carte+&sca_esv=a2e43e9e 1c69768b&ei=MSc

https://www.google.com/search?q=ouagnoun+carte+&sca_