

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../S

Mémoire de fin d'études

Présenté par

Belarbi Khada

&

Zamaouche Nebia

Pour l'obtention du diplôme de

Master en biologie

Spécialité: valorisation des substances naturelles végétales

Thème

**Etude de l'effet bioinsecticide de l'extrait
méthanoïque de *Nerium oleander* sur le puceron
d'agrumes *Aphis spiraecola***

Soutenue publiquement le 02/07/2017

Devant le Jury

Présidente	SAIAH Farida	Grade M.C.B U. Mostaganem
Encadreur	BOUALEM Malika	Grade M.C.B U. Mostaganem
Examinatrice	BENOURED Fouzia	Grade M.C.B U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Protections des Végétaux

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma très chère Mère pour tous ses sacrifices, et son amour.

A mon Père qui m'a toujours aidé et encouragé.

*Très chers parents. Recevez ici l'un des plus précieux cadeaux que
Je puisse vous offrir. Car c'est grâce à vous que je suis arrivée là où je suis.*

A mes frère Mohamed et Reda et Achref

A toute ma famille.

A tous mes amis

Khada



Remerciement

En terminant notre mémoire de fin d'étude, nous rendons grâce à dieu de nous avoir donné la volonté, ainsi que la conscience pour la réalisation de ce travail.

Il nous est agréable d'adresser notre vif remerciement à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réaliser de cet ouvrage.

Nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciement à

*Mme **BOUALEM Malika** Qui a rendu ce travail une expérience motivante et enrichissante. Nous ne saurons jamais oublier sa disponibilité, ses compétences et ses recommandations continuent pour nous, qui nous furent très inestimables.*

*Nos vif remerciements s'adressent également à Mme **SAIAH Farida** d'avoir acceptez de présider ce jury et pour toute l'aide et soutien qu'elle nous a manifesté.*

*On remercie vivement Mme **BENOURED Fouzia** d'avoir acceptez de juger ce modeste travail.*

Sincères remerciements à tous nos enseignants et surtout ceux du département de Biologie.

Merci enfin pour tous ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre lors de ce mémoire de fin d'étude, nous les remercions du fond du cœur.



Dédicace

Je remercie le DIEU tout puissant, et Je dédie ce modeste travail a :

Mes chers parents :

Les mots ne suffiront pas pour témoigner toute ma gratitude pour leur entière disponibilité, leur assistance et leur dévouement tout au long de mes études -Que dieu me les gardes-

Mes chers frères et soeurs :

Zoulikha, souad, abdalkhader, miloud, ismail.

Mes copines :

Fatima, zahia,

Sans oublier toute la famille zamaouche sans exception

Ainsi qu'à toute ma promotion de master : valorisation des substances naturelles végétales.

Nebia.z



Table de matière

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

Partie bibliographique :

Chapitre I : Laurier rose (Nerium oleander)

I.1. Famille Apocynaceae..... 3

I.1.1. Laurier rose (*Nerium oleander*)..... 3

I.1.1.1 Généralités..... 3

I.1.1.2 Noms vernaculaires..... 4

I.1.1.3 Description botanique..... 4

I.1.1.4 Origine et distribution..... 5

I.1.1.5 Taxonomie..... 6

I.1.1.6 Culture..... 6

I.1.1.7 Utilisation..... 7

I.1.1.8 Composition chimique et principes actifs..... 7

I.1.1.9 Propriétés pharmacologiques..... 8

I.1.1.10 Toxicité..... 8

I.1.1.11 Lutte biologique..... 10

Chapitre II : Le puceron d'agrume Aphis spiraecola

II .1. Généralités sur les pucerons 12

II.1.1 Introduction	12
II.1.2 Caractéristiques morphologiques des pucerons	12
II.1.3 Classification systématique d' <i>A. Spiraecola</i> selon Jourdan et Mille (2006)	13
II.1.4 Description morphologique des aphides	13
II.1.5 Cycle de vie	15
II.1.6. Alternance des plantes hôtes chez les pucerons: primaire et secondaire	16
II.1.7. Les dégâts causés par <i>A. Spiraecola</i> sur l'espèce végétale	17

Chapitre III : bio insecticide d'origine végétale

III.1 Généralité	18
III.2 Définition	18
III.2.1 Insecticide	18
III.3.2 Insecticide d'origine végétale	19
III.3.3 Historique	19
III.4 Première génération de molécules végétales insecticides	19
III.4.1 alcaloïde	19
III.4.2 Les polyphénols	21
III.4.3 Huiles végétales	23
III.5 Une deuxième génération d'insecticide d'origine végétale	23
III. 6 Impact et caractéristiques des biopesticides	23
III.6.1 Avantages	23
III.6.2 Inconvénients	24

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1 Objectif du travail	25
IV.2 Matériel végétal	25
II.2.1 Récolte	26
IV.2.2 Méthodes d'extractions (L'extracteur de soxhlet)	27
IV.2.2.1 principe	27
IV.2.2.2 Domaine d'application	27

IV.2.2.4 Préparation de l'extrait hydro méthanoïque	29
IV.2.2.5 Mode opératoire	29
IV.2.2.6 L'évaporateur rotatif	29
IV.2.2. 7 Le rendement d'extraction	33
IV.3 Matériel animal	33
IV.3.1 Choix des insectes	33
IV.3.2 Choix des feuilles infesté	34
IV.3.3 Collecte des larves	35
IV.3.4 Test de toxicité	35
IV.3.4.1 Test par contact	36
IV.3.5 Taux de mortalité	37
IV.3.6 Déterminer la DL50	38

Chapitre V : Résultats et discussions

V.1 Extraction	39
V.1.1 Taux d'humidité de la matière végétale	39
V.1.2 Rendement	40
V.1.2.1 L'extrait hydro-méthanoïque de <i>N.Oleander</i>	40
V.1.3 Les facteurs influencés l'extraction de type «soxhlet» et le choix de Solvant d'extraction	41
V.2 Activité larvicide	42
V.2.1 L'activité larvicide des extraits de <i>N.oleander</i>	42
V.2.3 Les doses létales 50 et 90	44
V.2.4 Les analyses statistiques	45
VI Conclusion générale	46

Références bibliographique

Annexe

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Propriétés pharmacologiques de *N. oleander*

Tableau 2: caractéristiques de l'espèce végétale testé pour leur activité contre Le puceron d'agrumes (*Aphis spiraecola*)

Liste des figures :

Figure 01: Arbuste de laurier rose	03
Figure 02 : Plante de laurier rose.....	05
Figure 03 : puceron d'agrumes (<i>A. Spiraecola</i>)	12
Figure 04: Puceron aptère et ailé (INRA, 2013)	15
Figure 05 : Cycles annuels de vie des pucerons avec alternance ou non de plantes hôtes...	16
Figure06: alternance des plantes hôtes chez les pucerons	17
Figure07: Plante de <i>Nicotiana tabacum</i> (A) ; <i>Aphis rumicis</i> (B).....	19
Figure 08 : <i>Veratrum album</i>	20
Figure09: (A) : <i>Derris elliptica</i> ; (B) : <i>Leptinotarsa decemlineata</i>	21
Figure10 : La région de récolte de plante (<i>Nerium oleander</i>).....	26
Figure 11 : Montage d'un extracteur de type soxhlet.....	28
Figure 12: Montage de l'évaporateur rotatif.....	30
Figure 13 : Eléments de la préparation de la solution méthanoïque	31
Figure14 : 30g de feuilles fraîches découpée.....	31

Figure15 : Traitement des feuilles découpées par pétrolium d'éther (le traitement se fait sous la hotte)- laissé les feuilles séchés 10 min).....	31
Figure 16 : Mettre les feuilles dans la cartouche du soxhlet.....	32
Figure17 : Passer l'extrait hydro-alcoolique sous Rotavapeur afin d'évaporer le solvant (méthanol).....	33
Figure 18 : Les larves de puceron d'agrumes (<i>A. spiraecola</i>)	34
Figure 19 : Disposition des boîtes de Pétri contenant les larves du puceron d'agrumes (<i>A. spiraecola</i>).....	36
Figure20: Loupe binoculaire	36
Figure21 : début et la fin d'extraction.....	39
Figure 22 : Taux d'humidité de <i>N. Oleander</i>	40
Figure 23 : L'extrait méthanoïque des feuilles fraîches de <i>N. Oleander</i>	40
Figure 24 : L'évolution de l'activité larvicide de l'extrait hydro-méthanoïque de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i> (Taux de mortalité cumulée)	43
Figure 25 : L'évolution de l'activité larvicide de l'extrait hydro-méthanoïque de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i> (Taux de mortalité corrigée)	44
Figure26: Courbe de tendance linéaire de l'extrait hydro-méthanoïque de <i>N. oleander</i>	44

LISTE DES ABREVIATIONS

- DL : Dose Létale
- EX : extrait
- *N* : Nerium
- *A* : *Aphis*
- C : degré Celsius (température)
- % : pourcentage
- ml : millilitre
- T(+): Témoin positif (Acétone 60%)
- T(-): Témoin négatif (eau distillée)
- OMS : Organisation mondiale de la santé
- NAS: National Academy of sciences.

Résumé

Le puceron reste le ravageur le plus redouté par les agriculteurs, l'emploi intensif d'insecticides de synthèse chimique a provoqué une contamination de biosphère et la chaîne alimentaire ainsi que l'apparition d'insectes résistants. Pour cette raison, nous avons évalué la toxicité de l'extrait hydro-méthanoïque de *Nerium oleander* prospérant spontanément dans la wilaya de Mostaganem, sur des insectes de puceron d'agrumes (*Aphis spiraecola*). C'est dans cet axe, que notre travail s'est effectué pour évaluer l'effet insecticide de *N. oleander* (laurier rose). Les tests utilisent les propriétés insecticides de l'extrait hydro-méthanoïque de *N. oleander* obtenue par l'extraction par soxhlet. Il s'emploie en pulvérisation et agit par contact sur les pucerons pour tenter de limiter leurs développements. Les résultats des tests insecticides ont montré que les dilutions de 30, 40 et de 50% ont été retenues comme étant les plus efficaces par rapport aux autres dilutions. L'extrait utilisé issu de plante toxique *N. oleander* a une activité insecticide certaine. Ceci nous amène à dire que la plante étudiée est prometteuse comme source de bio-insecticides et se prête bien à des investigations dans le domaine de la lutte biologique.

Mots clés: *Nerium oleander* - bio insecticides- *Aphis spiraecola*- hydro-méthanoïque- Toxicité.

Abstract:

The aphid remains the most feared pest by the farmers, the intensive use of the chemical synthesis insecticide has brought on a biosphere and the food chain contamination as well as resistant insects appearance. The toxic plants represent an immense tank of potential compounds attributed to secondary metabolites which have the advantage to be of a great diversity of a chemical structure and they possess a wide range of biological activities such as insecticidal activity. It is in this way where our work is carried out in order to evaluate the insecticide impact of toxic plant *N. oleander*. The tests use the insecticidal properties of the peppermint extracts of the *N. oleander* obtained by extraction by soxhlet. They are used in pulverization and act by a contact on the aphids, so that to try to limit their developments. The results of insecticidal tests have shown that the dilutions 30, 40 and 50% have been retained as being the most efficient among the other tested dilutions. The used products issued of the toxic plant *N. oleander* has an insecticidal activity which is surely. This leads us to say that the studied plant is promising as a source of bio insecticides and is ready for investigations in biological fighting domain.

Keys-words: *Nerium oleander* – bio insecticides- Aphid- hydro-méthanoic- Toxicity.

Le puceron reste le ravageur le plus redouté par les agriculteurs. En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides de synthèse chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cible telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants.

Ces dangers ont conduit l'OMS (Organisme Mondiale de la Santé) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche. Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche de molécules nouvelles. Face aux attentes de la société en matière d'agriculture biologique, de durabilité, de biodiversité, s'ajoutent les évolutions réglementaires sur les produits de synthèse. Les méthodes de protection des cultures faisant appel à des produits naturels.

Cette orientation a été concrétisée par le plan « Ecophyto 2018 » présenté en septembre 2008. Il s'agit donc pour les filières agricoles de mettre au point au plus vite, des pratiques alternatives de production.

Parmi les interventions en faveur d'une lutte biologique, nous pouvons citer l'emploi d'insecticides botaniques. Certaines essences végétales renferment des constituants ayant des propriétés pesticides qui peuvent être exploités dans la lutte contre les ennemis de cultures afin de sécuriser au mieux la production en réduisant les dégâts, et diminuer l'utilisation des produits chimiques et par conséquent, limiter les effets néfastes de ces derniers sur l'environnement et la santé humaine.

Notre étude s'inscrit dans le cadre de l'élaboration d'une stratégie de lutte contre Le puceron d'agrume *Aphis spiraecola* par utilisation de l'extrait végétal de plante toxique laurier rose (*Nerium Oleander*) pousse spontanément dans la wilaya de Mostaganem .

Dans ce sens, le présent travail cible les objectifs suivants :

- Extraction hydro-alcoolique de la plante étudiée à l'aide d'un extracteur de type soxhlet.
- L'effet du choix du solvant d'extraction sur le rendement d'extraction.

- Etudier l'efficacité insecticide de la synergie de l'extrait hydro-méthanoïque de plante toxique.
- Testé l'effet de l'extrait utilisés sur les stades larvaires de puceron.

Notre étude est subdivisée en trois parties :

Tous d'abord, la partie bibliographique qui comprend trois chapitres dont le premier présente la description botanique de la plante étudiée, le deuxième définit le ravageur étudiée (Le puceron d'agrumes *Aphis spiraecola*). Le troisième chapitre traite quelques notions, définition sur les bio-insecticides d'origines végétales

Dans la partie «Matériels et méthodes », la méthode d'extraction utilisée dans ce travail, la préparation des échantillons, et l'instrumentation utilisés sont décrites ;

La partie consacrée à la présentation des résultats et à la discussion obtenue ainsi que leurs interprétations : présente le rendement d'extraction, taux de mortalité, DL50, D90, des études statistiques.

I.1. Famille Apocynaceae :

La famille des Apocynaceae ou Apocynacées est une famille de plantes eudicotylédones de l'ordre des Gentianales. Ce sont, pour la plupart, des lianes ou des plantes herbacées, quelques arbres ou arbustes, à latex, à feuilles persistantes, des régions tempérées à tropicales (Judd *et al.*, 2002).

Aujourd'hui cette famille donne de nombreuses plantes ornementales ainsi que des plantes médicinales. En Algérie on peut citer comme exemple le laurier rose.

I.1.1. Laurier rose (*Nerium oleander*):

I.1.1.1. Généralités :

Le *Nerium oleander* ou laurier-rose (appelée localement Défla) est un arbuste appartenant à la famille des Apocynaceae originaire de la rive sud de la mer Méditerranée (Derwic *et al.*, 2010). Il est parfois appelé Oléandre et plus rarement Rosage ou Nérian ou Lauraine.

Le nom latin *Nerium* vient du grec nerion signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (Paris et Moyse, 1971).

Le nom spécifique *oleander* vient de l'italien « Oleandro » qui vient du latin « *Olea* » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages.



Figure 01: Arbuste de laurier rose (Originale, 2017)

I.1.1.2. Noms vernaculaires :

Nerium oleander est connu sous différentes dénominations communes selon les pays et régions considérés :

- **Nom français :** Laurier rose (**Laib, 2013**).
- **D'autre nom :** Oléandre, nérier, nérier à feuilles de laurier, laurose, laurelle (**Lewonczuk, 2004**).
- **Nom anglais:** Rose-bay, Common pink oleander (**Beaslev et Poppenga, 1999**).
- **Nom arabe :** el-defla الدفلة, ilili, elal, thalilit, alidji, anidji, anini, ariri (**Delille, 2010**).

I.1.1.3. Description botanique :

Le laurier rose est un arbuste dressé atteignant 3-4m de hauteur, possédant (**Paris, 1971; Bruneton, 2001; Hussain, 2004, Delille, 2010**):

- **Feuilles :** opposées ou verticillées par 3, longuement lancéolées (8-14 x 5-2.5cm), coriaces, à nervures secondaires pennées, très nombreuse, serrées ;
- **Fleurs :** en corymbes terminaux, ont une corolle infundibuliforme à gorge rose s'évasant en 5 lobes étalés et ornés d'un appendice à 3-4 dents courtes ; elles s'épanouissent de juin à septembre, sont de teinte rose ou blanche, disposées en corymbe.
- **Fruit :** comporte deux follicules allongés (8-16 x 0.5-1.5cm), soudés jusqu'au début de la déhiscence.
- **Graine :** duveteuse, est surmontée d'une aigrette sessile qui en facilite la diffusion

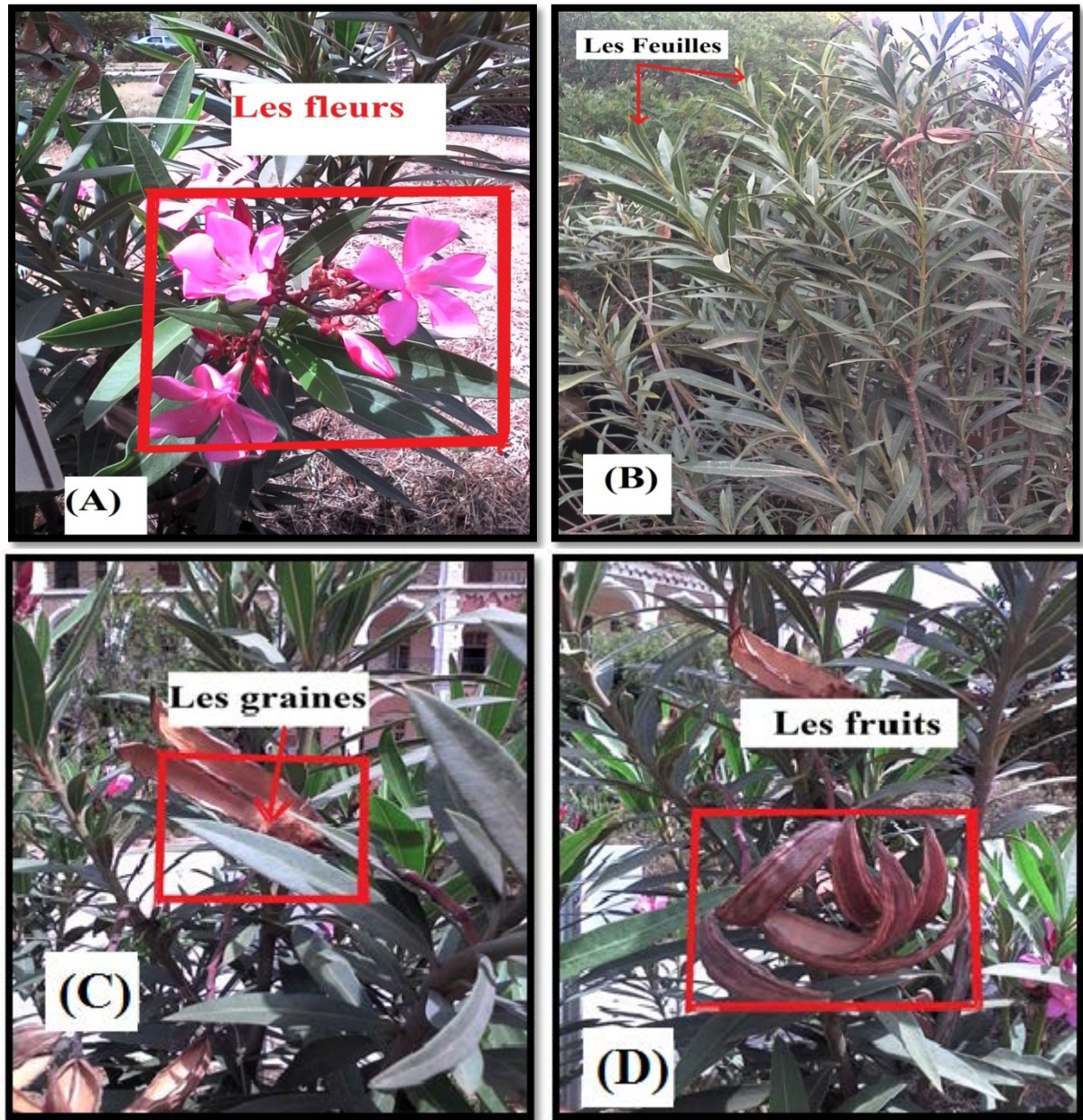


Figure 02 : Plante de laurier rose

(A : Les fleurs ; B : Les feuilles ; C : Les graines ; D : Les fruits)
(Orinel, 2017)

I.1.1.4. Origine et distribution :

Le *Nerium oleander* se développe notamment des pays du pourtour du bassin méditerranéen. Il serait originaire du Proche-Orient (**Paris, 1971**).

L'espèce croît spontanément sur les berges rocailleuses des rivières, par fois même, dans les zones littorales, habituellement dévolues aux espèces halophiles.

Adaptée à la sécheresse, le *N. oleander* est très décoratif pour la beauté de ses fleurs (**Paris, 1971; Bruneton, 2001**).

A. Dans le monde

Le laurier-rose est originaire d'Afrique du Nord où des buissons fleuris se retrouvent sur le parcours des oueds. Le *N. oleander* se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...) (**Ridings, 1976**).

B. En Algérie :

En Algérie, sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocailloux. Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (**Chopra, 1971**).

I.1.1.5. Taxonomie :

La classification de laurier rose est présentée selon divers auteurs comme suit :

- **Règne :** plantae ;
- **Division :** Angiospermae
- **Classe :** Dicotyledoneae (**Benayard, 2008**) ;
- **Ordre :** Gentianales (**Laib, 2013**) ;
- **Famille :** Apocynaceae (**Laib, 2013**) ;
- **Genre :** *Nerium* ;
- **Espèce :** *Nerium oleander* L. (**Laib, 2013**)

I.1.1.6. La culture :

Le laurier rose se trouve dans les régions méditerranéennes de l'Europe, de l'Asie et de l'Afrique (**Julve, 2014**), Il préfère :

- Le climat marin chaud et humide ;
- Un sol à PH plutôt basique ;
- Pas trop riche en non tolérant à la salinité et pauvre en Matière organique.

I.1.1.7. Utilisation (usage populaire et médicinal) :

Les feuilles réduites en poudre ou en extrait fluide étaient autrefois utilisées à des fins médicinales (en bain de bouche contre les abcès et les maux de dents, en application locale sur les verrues et les lésions de la gale).

L'industrie pharmaceutique en tirait et commercialisait l'oléandrine aujourd'hui abandonnée.

I.1.1.8. Composition chimique et principes actifs :

Les hétérosides cardiotoniques et les alcaloïdes à noyaux indolique et stéroïdique sont considérés comme les marqueurs chimiotaxonomiques de la famille des Apocynaceae (**Paris et Moyse, 1971 et Hostettma et al., 2000**).

- *Nerium oleander* :

Les études phytochimiques effectuées sur *le N. oleander* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les cardénolides, tritèrènes, prégnanes, flavonoïdes, coumarines et des dérivés stéroïdiques (**Hanson, 1985**).

Les principes actifs sont les hétérosides stéroïdiques cardénolides.

- **Hétérosides :**

Le composé le plus caractéristique du laurier rose est l'oléandrine, est un hétéroside de l'oléandrose et l'oléandrigénine.

- ✓ **Les feuilles :** Renferment environ 1,5% de cardénolides, dont 0.1% d'oléandrine ou 3-o- α -Loléadrosyl-16-acétylgitoxigénine ;
- ✓ **Les graines :** renferment de l'oléandrine et des composés voisins : odorosides, adigoside, gluco-strospéside, etc. (**Bruneton, 2001**).

- **Huile essentielle :**

Dans les fleurs et les feuilles, elles ont un effet antioxydant due aux composés phénoliques (**Ozkan et al ., 2010**). L'usage interne de cette plante doit être confié à des personnes hautement qualifiées (**Delittle, 2010**).

I.1.1.9. Propriétés pharmacologiques :

D'après la littérature, les diverses parties du *N. oleander* ont exhibé in-vitro et in-vivo une série d'activités biologiques et pharmacologiques (Tab. 01) :

Tableau 01 : Propriétés pharmacologiques de *N. oleander*

Parties utilisées	Propriétés pharmacologiques et utilisation / (références)
Feuilles	Cardiotoniques, antibactériens (Hussain, 2004; Delille, 2007)
Racines	Anticancéreux, antilèpreux, anti-ulcèreux, antibactériens, cardiotoniques (Hanson, 1985 ; Siddiqui, 1989 ; Huq, 1999)
Différents parties	Antimalaria, antivirale, anti-ulcèreux, anticancéreux, antidote (Ibrahim, 2007) et comme insecticide (Adom, 2003)

I.1.1.10. Toxicité :

N. oleander est une plante toxique par ingestion de ces diverses parties (feuilles, fleurs, tiges,...). Sa toxicité envers l'homme, l'animal et certains insectes a fait l'objet de plusieurs études (**Adom, 2003; Almahy, 2006 ; Barbosa, 2008**).

N. oleander étant plus souvent associé à des intoxications accidentelles chez les enfants ou même chez les animaux domestiques (**Bruneton, 2001**). Toutefois, des tentatives de suicide au *N. oleander* sont régulièrement colligées par les toxicologues dans différentes parties du globe (**Bourgeois, 2005**).

L'empoisonnement peut être causé par l'ingestion d'une seule feuille verte ou séchée qui peut s'avérer mortelle pour un adulte (**Bruneton, 2001**).

A- Toxicité cutané :

Cette plante appartient à la liste des substances chimiques capables de provoquer une brûlure cutanée lorsqu'elles sont absorbées par voie cutanée. Les brûlures de la peau sont signalées chez les sujets sensibles, cela est dû au mécanisme de production de la brûlure, qui dérive de deux actions différentes: la réaction exothermique qui se produit et l'action du caustique qui provoque la coagulation des protéines. Des cas de brûlures chimiques par le laurier rose et de gravité différente sont rapportés dans la littérature scientifique (**Ann.B, 2010**).

B-Principes actifs toxiques :

Les hétérosides du laurier rose sont des cardénolides. Le constituant majoritaire est l'oléandrine (3-0- α -L-oleandrosyl-16-acetylgitoxigénine). Mais elle contient aussi d'autres hétérosides cardiotoniques, comme l'oléandroside, l'oléandrose, l'oleandrigénine, la glucosyloleandrine, le gentiobiosyl oleandrine, le nerigoside, etc. (**Bruneton J, 2005**)

C-La Quantité toxique:

Elle est difficile à définir, car les données rarement complètes sont d'interprétation délicate. D'après Mack (1984) « une feuille peut tuer un adulte » (**Mack, 1984**), cependant un seul cas soutient cette thèse, et il s'agit seulement d'une suspicion. Le peu de données fiables rapportent des symptômes pour l'absorption d'une ou deux feuilles ; des symptômes sévères pour 6 ou 7 feuilles (**Safadi, 1995**) et un cas mortel pour l'équivalent d'une quinzaine de feuilles (**Barceloux, 2008**).

D-Les mécanismes de toxicité :

Les mécanismes responsables de la toxicité sont à superposer à ceux des hétérosides digitaliques classiques agissant principalement sur l'inhibition de l'ATpase Na-K membranaire et par l'élévation du calcium intracellulaire (**Bruneton, 1999**).

L'action de l'oléandrine est double : interaction avec la pompe à Na⁺ et K⁺ des cellules du muscle cardiaque et action direct sur le tonus vagal donc la régulation nerveuse des battements cardiaques.

E-Symptômes de toxicité :

Les symptômes apparaissent plusieurs heures (72h) après l'ingestion d'une quantité toxique (Adom *et al.*, 2003). Les signes neurologiques comprennent habituellement une sensation de malaise, de faiblesse et, souvent de la confusion mentale, des troubles de la vision, des signes cardiaques, troubles du rythme (Charnot, 1945).

F-Traitement :

En traitement traditionnel le laurier rose a été utilisé comme médication cardiaque et comme abortif. Ce produit purifie la matrice et calme les douleurs rhumatismales et goutteuses; les ulcères des animaux seraient traités par la feuille sèche pilée (Charnot, 1945). Des dermites ont été provoquées chez des sujets sensibles (Sijelmassi, 1981).

La feuille triturée appliquée sur les tumeurs indurées les modifient avantageusement et les fait suppurer et elle flétrit les hémorroïdes. Ni l'ébullition ni la dessiccation des feuilles ne permettent d'inactiver les toxines constituées essentiellement d'hétérosides cardénolides (Shumaik, 1988).

I.1.1.11. Lutte biologique (Activité bio pesticide):**A- L'effet laurier rose sur la germination (bio-herbicide) :**

L'effet des extraits aqueux des racines, des feuilles et des bourgeons de *N. oleander* L. sont testés aussi par (Karaaltin *et al.* (2004) sur la germination et le développement des plantules de haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) et du blé tendre (*Triticum aestivum* L.). Le haricot est plus affecté que le blé, l'extrait des bourgeons n'a aucun effet. Tous les extraits stimulent la germination mais réduisent la longueur de la racine et de la tigelle. Les extraits des racines sont les plus efficaces (Kadioglu et Yanar, 2004 ; karaaltin *et al.*, 2004 ; Aksoy, 2003 ; Iskenderoglu, 1995).

B-Activité insecticide :

Le *Nerium oleander* est utilisé d'une manière traditionnelle sous forme de boutures par les agriculteurs dans la région de Constantine pour limiter les dégâts des vers blancs. Mais jusqu'à présent aucun travail scientifique n'a été fait dans ce sens pour montrer son effet sur les insectes en général et plus particulièrement sur les vers blancs (**El Modafar et al., 2000**).

- **Principes actifs insecticides :**

Le spectre aux rayons UV, montre que le *Nerium* contient des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins (**Auget et al., 1999**).

- **Mode d'action (insecticide) :**

Les boutures de *N. oleander* ont un effet répulsif sur les larves de Rhizotrogini. Elles sont repoussées à une profondeur de 20cm par rapport au témoin qui sont à 4 cm seulement. Cet effet réduit les dégâts de ces larves pour les cultures puisqu'ils les éloignent des racines des plantes qui sont généralement à 10 et 15 cm de la surface du sol (**Merghem, 2001**).

L'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *N. oleander* (Apocynacées) est administré par trempage (10mg/100 ml) des larves de Rhizotrogini (Coleoptera Scarabaeidae) a un effet sur le taux de protéines de l'hémolymphe et sur l'activité de l'acétylcholinestérase. L'effet de l'extrait hydro- alcoolique du *N. oleander* se manifeste par une diminution significative du substrat hydrolysé exprimé en moles par heure par mg de tissu. Cette influence sur le taux des protéines et sur l'activité de L'AchE pourrait être due a des composés qui se trouvent dans l'extrait de *N. oleander* (**Merghem, 2001**).

II .1. Généralités sur les pucerons :

II.1.1.Introduction :

Les pucerons ont toujours été considérés comme l'un des groupes les plus nocifs aux plantes. Ils sont considérés comme une source perpétuelle de frustration pour les agriculteurs et les jardiniers (Powell *et al.*, 2006).

Ce sont des ravageurs communs des cultures et des plantes ornementales (Pereraet *et al.*, 2005). Comme ils sont vecteurs de nombreux virus de plantes tels que la Mosaïque ; la jaunisse de la Sharka et le virus de Tristeza qui a détruit à lui seul environ 50 millions d'arbres pendant une durée de 40 à 50 ans (Lecoq, 1996 et Tahiri, 2007). Pourtant, ils sont souvent contrôlés par grand nombres d'espèces d'ennemis naturels, notamment les parasitoïdes.

Nous comptons actuellement, environ 350 genres avec 3500 espèces décrites (Imenes *et al.*, 2002).



Figure 03 : puceron d'agrume (*A. Spiraecola*) (Originale ; 2017)

II.1.2.Caractéristiques morphologiques des pucerons :

Les pucerons ou aphides font partis de l'embranchement des arthropodes : corps segmenté et articulé, squelette externe chitineux. Ce sont des insectes : leur corps, dont la longueur varie entre 2 et 5 mm, est divisé en 3 parties bien différenciées : tête, thorax et abdomen (Stary, 1975).

Ils font partie de la superfamille des Aphoidoidea, de la famille des Aphididae (présence de deux cornicules sur l'abdomen) se situent dans l'ordre des Homoptères. Chez la plupart des espèces de pucerons, coexistent des formes adultes ailées et aptères (Stary, 1975).

II.1.3. Classification systématique d'*A. spiraecola* selon Jourdan et Mille (2006) :

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Ordre	Hemiptera
Famille	Aphidinae
Sous famille	Aphidinae
Genre	<i>Aphis</i>
Espèces	<i>Aphis spiraecola</i> (Patch, 1914)

II.1.4. Description morphologique des aphides :

Les Aphides varient beaucoup en forme et en taille (Loukia, 1970), mais on peut tout de même donner quelques traits généraux selon :

- Le corps est ovulaires à coupe globulaire, les téguments sont mous et présentent des soies de forme et de longueur très variables (Stary, 1975).
- La tête est généralement bien séparée du thorax chez les formes ailées et pas chez les aptères. Sur celle-ci sont insérées les antennes qui comprennent 3 à 6 articles (le plus souvent 6). Le dernier article est généralement le plus long et comprend une partie basale légèrement renflée et une partie terminale qui peut être plus courte que la base ou considérablement plus longue, appelée processus terminal ;
- Les antennes peuvent être insérées directement sur le front ou sur des protubérances du vertex appelées tubercules frontaux-latéraux.

Certains articles antennaires possèdent des organes sensoriels : **Les sensoria.**

Sensoria primaires existent chez toutes les formes à tous les stades et sont localisés à la partie distale des deux derniers articles. En revanche, les sensoria secondaires sont situés généralement sur le 3^{ème} article et les suivants : nombreux chez les formes ailées et chez les mâles aptères, ils sont plus rares chez les virginipares aptères (**Brun, 1973**).

- L'abdomen porte généralement dans sa partie postérieure, une paire de cornicules de forme et de couleur très variable ;
- Le dernier segment abdominal (le 10^{ème}) forme la queue (ou coda) plus ou moins développée et de forme variable suivant les espèces qui sert à l'épandage du miellat (**Fraival, 2006 et Sorensen, 2003**) ;
- Les tarse ont deux articles dont le dernier est pourvu d'une partie de griffes.

Les pucerons possèdent les éléments typiques de l'appareil buccal des insectes, mais transformés par leur spécialisation. La lèvre inférieure est transformée en trompe où se logent deux paires de stylets : les mandibules et les maxilles. Ces derniers sont accolés, l'un à l'autre sur leur longueur, formant un faisceau, et coulissent les uns par rapport aux autres en délimitant des canaux salivaires et alimentaires. Ils ont donc un système buccal de type piqueur-suceur (**Fraival, 2006 et Sorensen, 2003**).

Malgré tous ces caractères communs, il existe d'importantes différenciations morphologiques entre familles, genres et espèces de pucerons. Les critères de différenciation, souvent plus nets chez les ailés que les aptères, portent sur la forme du front et des tubercules frontaux (zones d'insertion des antennes), la forme des cornicules, des stigmates abdominaux, ainsi que sur la forme et le nombre de rhinaries (Sensoria secondaires) et la pigmentation des différentes parties du corps (**Fraival, 2006 et Sorensen, 2003**).

Le corps du puceron adulte, mou et en forme de poire, mesure de 1 à 4 mm de long. Il existe une grande variabilité de morphologie entre les espèces de pucerons ainsi qu'entre les individus d'une même espèce. Certaines possèdent un corps translucide, soit vert, noir, brun, rose ou jaune. D'autres, qualifiées de lanigères, possèdent un corps recouvert d'une cire blanche semblable à de la ouate. (**Anonyme A ; 2006**).

- **Le puceron adulte se caractérise par :**
 - une tête soudée au thorax comportant :

- une paire d'antennes de longueur variable;
- un rostre qui porte les pièces buccales de type piqueur-suceur;
- trois paires de pattes grêles;
- deux paires d'ailes membraneuses, le cas échéant;
- un abdomen se terminant par une cauda et comportant une paire de cornicules chez plusieurs espèces (Anonyme A ; 2006).

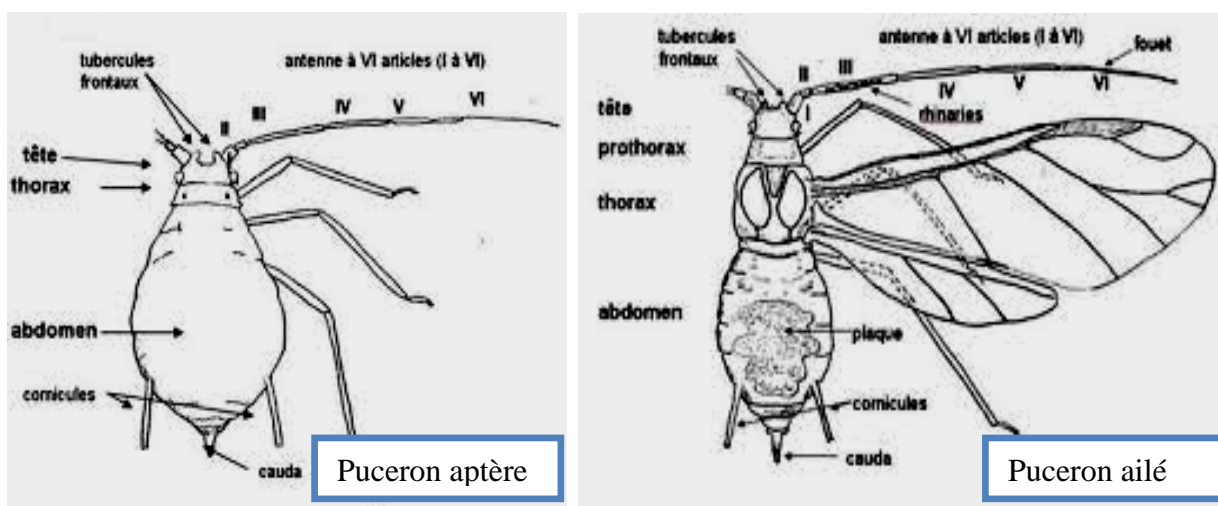


Figure 04: Puceron aptère et ailé (INRA, 2013)

II.1.5. Cycle de vie :

- Le cycle de vie des pucerons témoigne de l'étonnante plasticité adaptative de ce groupe d'insectes, caractère qui contribue de manière considérable à leur succès en tant que ravageurs de plantes. Les pucerons peuvent être divisés en deux groupes en fonction de leur cycle de vie. Les espèces dites monœciques qui se nourrissent sur les mêmes espèces de plantes vivaces ou herbacées tout au long de l'année (Fig. 4. A), les espèces dites diœciques ou hétéroœciques qui, au cours de leur cycle biologique, changent d'hôte et migrent d'un hôte primaire (souvent des plantes ligneuses, en hiver) vers une ou plusieurs espèces secondaires (telles des plantes herbacées durant l'été) (Fig.4.B) (Dixon, 1998). Seulement environ 10 % des espèces de pucerons sont diœciques (Eastop, 1986), mais certaines d'entre elles, comme *Aphis fabae* et

Myzus persicae se retrouvent en abondance dans la nature. La migration des colonies de pucerons d'une plante hôte à l'autre est facilitée par la production de formes ailées à la fin du printemps et durant l'automne (Eastop, 1986).

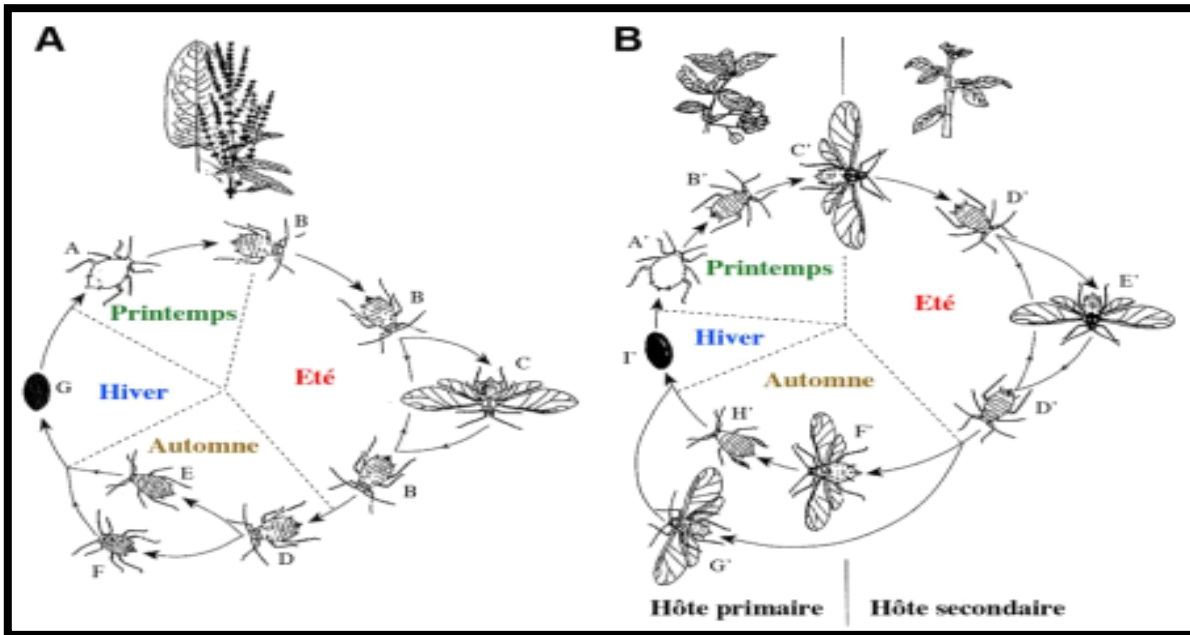


Figure05: Cycles annuels de vie des pucerons avec alternance ou non de plantes hôtes (D'après Dixon, 1998)

II.1.6. Alternance des plantes hôtes chez les pucerons: primaire et secondaire :

Les espèces de pucerons alternant entre deux types de plantes très différentes durant leur cycle, sont dites dioéciques. Ce sont les pucerons holocyclique qui réalisent cette alternance. Ils réalisent leur reproduction sexuée et pondent leur œuf sur une plante appelée hôte primaire, puis réalisent le restant de leur cycle sur une autre plante appelée hôte secondaire.

D'autres espèces de pucerons réalisent tout leur cycle sur une seule plante. Ils sont dits Monoécique.

Les pucerons sont capables de produire des adultes ailés ou aptères (sans ailes). Les ailés sont produits quand les pucerons ont besoin de se disperser.

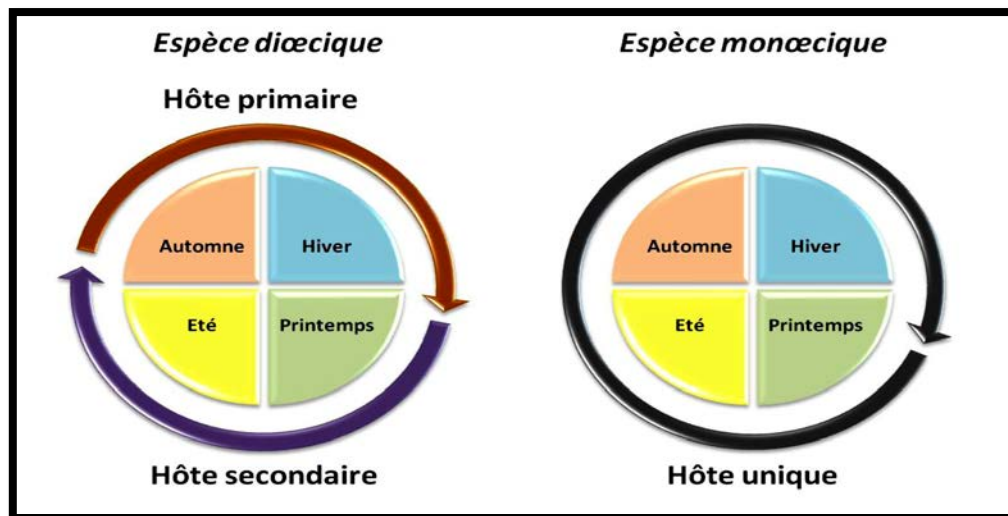


Figure06: alternance des plantes hôtes chez les pucerons (INRA ; 2013)

II.1.7. Les dégâts causés par *A. Spiraecola* sur l'espèce végétale :

L'enroulement des feuilles de *Citrus* : les pucerons se nourrissent exclusivement aux dépens des plantes : ils sont phytophages.

Les styles permettent aux pucerons d'effectuer des piqûres dans les plantes et atteindre les faisceaux cribro-vasculaires du phloème, transporteurs de sève élaborée. Le trajet des stylets est généralement intercellulaire, quelquefois intracellulaire (Loukia, 1970).

➤ Dégâts directes et indirectes

Les pucerons se nourrissent de la sève élaborée des plantes et provoquent des dégâts directs. En prélevant la sève, ils affaiblissent la plante. Leur salive est toxique et provoque la décoloration, la déformation ou la destruction des tissus végétaux. Ils sont aussi responsables de dégâts indirects en transmettant certains virus. En produisant du miellat, ils favorisent la présence de fumagine due à des champignons de couleur noire qui recouvrent les feuilles diminuant ainsi la photosynthèse. Loukia C, Argyriou. (1970).

III.1 Généralité :

Les organismes vivants possèdent des mécanismes de défense qui se manifestent sous plusieurs formes. Chez les plantes, organismes incapables de mobilité, l'évolution a privilégié le développement et l'accumulation de molécules toxiques qui peuvent efficacement éloigner les ennemis naturels ou limiter sensiblement leur intervention destructrice.

Il y a donc dans la nature tout un arsenal chimique capable d'éliminer les ennemis naturels de la végétation sans nécessairement empoisonner les autres composantes de l'environnement.

Et quand on sait qu'il y a quelques 200 000 espèces de plantes, on s'imagine facilement le nombre élevé de molécules qu'elles possèdent et qui pourraient avoir une action toxique ou délétère.

Les premiers usages phytosanitaires des végétaux. En effet il a été rapporté par de nombreux auteurs que beaucoup de métabolite de défense des plantes sont des mécanismes d'insecticides (**Rattan, 2010 ; Nerio *et al.* ; Ferreira et Moore, 2011**).

III.2 Définition :

III.2.1 Insecticide :

Etymologiquement parlant, un insecticide est une substance active ou une préparation ayant la propriété de tuer les insectes. Ils peuvent présenter des risques pour la santé et l'environnement via notamment leur persistance. Les insecticides peuvent également cibler les larves et les œufs d'insectes (**Regnault-Roger *et al.*, 2008**).

Le mot «insecticide» inclut aussi les pesticides destinés à lutter contre des arthropodes qui ne sont pas des insectes (ex : acariens tels qu'araignées ou tiques) ainsi parfois que des répulsifs (**Regnault-Roger *et al.*, 2008**).

Donc, Les bioinsecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie (**Regnault-Roger *et al.*, 2005**).

III.2. 3 Insecticide d'origine végétale :

Les insecticides organiques naturels sont des extraits de plantes obtenus par simple broyage de la partie de la plante préalablement séchée contenant la matière active (**Philogène et al., 2002**).

Pour certains auteurs, le terme de biopesticides comprend les agents de contrôle des insectes (auxiliaires) comme les arthropodes entomophages (ex. trichogrammes). Donc, Les bioinsecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie (**Regnault-Roger et al., 2005**).

III.3 Historique :

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (**Grainje et Ahmed, 1988**). Selon **N.A.S. (1969)**, dès l'Antiquité, les Chinois, les Grecs et les Romains utilisaient des plantes ou extraits de plantes avec du soufre et de l'arsenic.

Il a été rapporté que les Romains utilisaient des poudres préparées à partir de *Veratrum* sp. Comme insecticides et rodenticides tandis que des extraits d'ifs (*Taxus baccata*) ont été utilisés par certains peuples de l'hémisphère nord (**Schmutterer, 1992**).

III.4 Première génération de molécules végétales insecticides :

Au XIXe siècle, seuls quelques composés d'origine végétale étaient identifiés et abondamment utilisés comme répulsifs ou produits toxiques parmi lesquels :

III.4.1 Alcaloïde :

a) La nicotine :

La *nicotine* est une des premières molécules utilisées comme insecticide végétal. Dès 1690, des extraits aqueux de tabac étaient utilisés contre les insectes piqueurs-suceurs des plantes vivrières. Volatil, c'est un insecticide actif par inhalation. Sa stabilisation sous forme de sels (sulfate, oléate ou stéarate) augmente son activité insecticide par ingestion. Toutefois la nicotine se révèle également très toxique pour les mammifères et les hommes (inhalation et contact), ce qui a limité son emploi comme produit phytosanitaire.

Au niveau écotoxicologique, elle est toxique pour les oiseaux. Elle n'est plus commercialisée en France (**Pajot et Renault-Roger, 2008**).

Le tabac est produit à partir des feuilles fermentées et séchées d'une plante de la famille des solanacées *Nicotiana tabacum*. Cet alcaloïde très stable et présentant une grande toxicité sur les insectes, agit à la fois comme poison cardiaque et neurotrope (**Harmand, 2012**).



Figure07: Plante de *Nicotiana tabacum* (A) ; *Aphis rumicis* (B)

(Wilson et Edwardo, 2003)

a) La vératrine :

Elle a été extraite d'une plante «*Veratrum album*», utilisée contre les pucerons du groseiller (*Pteroneus ribesii*) pour détruire les poux du bétail (Fig.10). Ces alcaloïdes développent la même activité neurotoxique que les pyrèthres en ralentissant les fermetures des canaux de Na⁺ dépendants : en conséquence, la vératridine, perturbant la dépolarisation membranaire, provoque une paralysie avant la mort.



Figure 08: *Veratrum album* (Zagler *et al.*, 2005)

III.4.2 Les polyphénols :

a) Roténone et roténoïdes:

La *roténone* est un des plus anciens insecticides utilisés de par le monde, extraite de *Lonchocarpus nicou* (Amériques) et *Derris elliptica* (Asie), (Pajot, Regnault-Roger, 2008).

Ces derniers ont été utilisés contre le doryphore (*Leptinotarsa decemlineata*) ; comme indiqué dans la figure (11) (Weinzeirl, 1998).

La roténone seule n'est pas toxique pour les abeilles qui sont très sensibles à son association avec le pyrèthre. Toxique pour les vertébrés à sang froid : batraciens, poissons, reptiles. Chez l'Homme, elle joue un rôle dans l'apparition de la maladie de Parkinson et a été interdite à partir de l'année (2009-2011) pour cette raison dans l'Union européenne (Pajot, Regnault-Roger, 2008).

Le mode d'action de la roténone est bien connu (Drechsel et Patel, 2008 ; Ren et Feng, 2007). Elle agit au niveau de la respiration cellulaire mitochondriale.

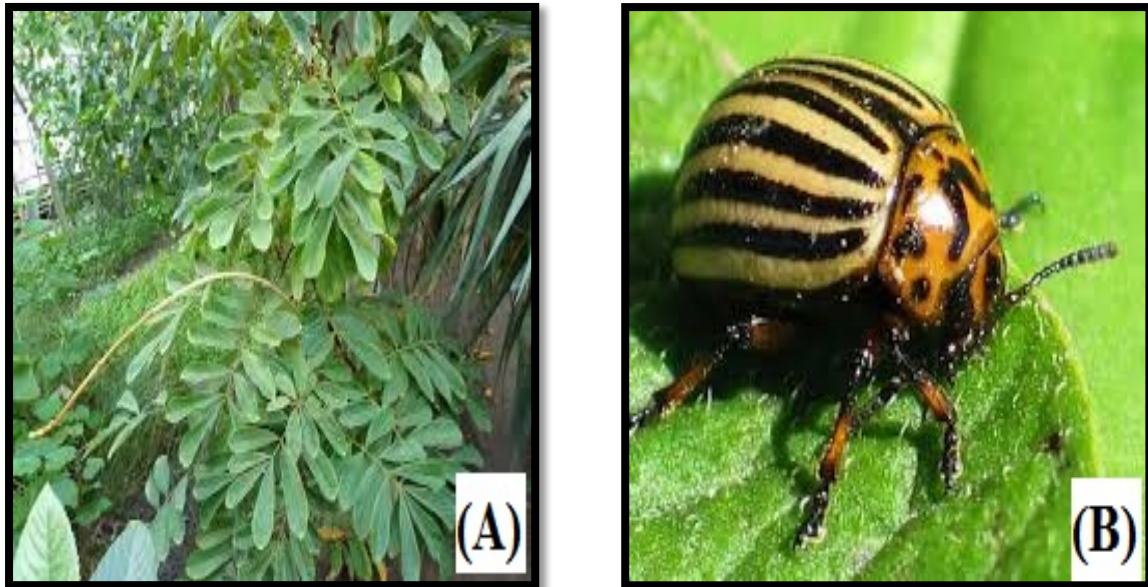


Figure09: (A) : *Derris elliptica* (Adema, 2003) ; (B) : *Leptinotarsa decemlineata* (Tkachenko, 2004)

b) Pyrèthres :

Extrait de plantes appartenant à la famille des Astéracées les chrysanthèmes (*Chrysanthemum spp.* ou *Pyrethrum spp.* ou *Tanacetum spp.* Les pyrèthres servaient pour se débarrasser des poux lors de les guerres napoléoniennes (Ware, 1991).

Ces produits pouvaient provoquer de nombreux effets sur les mammifères mais vu leur instabilité à la lumière, à l'air et à l'humidité, ces risques étaient considérablement amenuisés. À cause de ces aspects, les pyrèthrinoides de synthèse ont fait leur apparition (Weinzeirl, 1998).

Le pyrèthre agit en perturbant la conduction nerveuse par un ralentissement de la fermeture des canaux Na^+ au cours de la phase de reconstitution du potentielle d'action des neurones. En conséquence l'insecte présente une hyperactivité suivie de convulsion. Le pyrèthre et dérivés sont maintenant favorisés dans la lutte contre les tiques parce qu'ils sont moins toxiques que les organophosphorés et les carbamates.

Les pyrèthrinoides de synthèse constituent aujourd'hui un pilier de la lutte phytosanitaire et domestique (Regnault-Roger, 2008). Mais le pyrèthre provoque des réactions allergiques chez l'homme.

III.4.3 Huiles végétales :

Les huiles végétales ont été utilisées très tôt dans la lutte contre les insectes sous forme d'émulsions. Ils sont considérés comme atoxiques pour les mammifères, lors d'un usage normal.

Aujourd'hui, les huiles sont très utilisées aux États-Unis pour la protection des vergers dont certains insectes ravageurs, *Dysaphis plantaginea* et *Panonychus ulmi* sont devenus résistants à diverses familles d'insecticides (Weinzeirl, 1998).

III.5 Une deuxième génération d'insecticide d'origine végétale :

Aux composés historiques du début du XXème siècle, s'ajoutent d'autres extraits végétaux d'une utilisation plus récente. Parmi les plus en vue actuellement:

Le neem extrait du margousier (*Azadirachta indica*), une plante millénaire utilisée en Inde et redécouverte avec les travaux de Schmutterer en 1959 (Regnault-Roger, 2005).

L'utilisation des extraits de neem sont en fait un mélange de plus d'une centaine de composés limonoïdes parmi lesquels :

- Les azadirachtines (sont les seuls composés à développer une activité significative comme inhibiteurs de croissance) ;
- Les salanines et nimbines (des antiappétents).

III. 6 Impact et caractéristiques des biopesticides :

L'utilisation de biopesticides en agriculture comporte des avantages et des inconvénients. Voici une liste non exhaustive des bienfaits d'une telle lutte et les inconvénients qui s'y rattachent. Ils ont les caractéristiques suivantes :

III.6.1 Avantages

- Restreindre ou éliminer l'utilisation d'insecticides chimiques ;
- Moins toxique que les pesticides chimiques ;
- Favoriser lors d'une utilisation en serre (culture serricole de haute valeur économique) ;
- Diminuer les risques de développer de la résistance ;
- Favoriser par le nombre restreint d'insecticides homologués en serre ;

- Plus grande spécificité d'action ;
- Améliorer la qualité de vie des travailleurs agricoles ;
- Prévoir aucun délai avant la récolte ;
- Offrir aux consommateurs des produits sains ;
- Avoir une meilleure presse auprès des consommateurs ;
- Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution ;
- Maintenir la biodiversité des biotopes.

III.6.2 Inconvénients

- Lutte souvent faite en prévention et moins efficace que la curative ;
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'applications) ;
- Seuil de tolérance très bas pour les ravageurs ;
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre ;
- Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur ;
- Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi-vie et température plus fraîche) ;
- Excellente connaissance dans la relation proie – prédateur.

IV.1. Objectif du travail :

Actuellement, une des démarches les plus simples à observer pour identifier les sources végétales à potentielle insecticides phytochimique est la réalisation d'une enquête sur ces pratiques traditionnelles soit enquête sur le terrain soit à travers une recherche bibliographique (Regnault *et al.*, 2008).

L'étape suivante est de vérifier au laboratoire si l'une de ces pratiques empiriques était à l'origine d'un fondement réel.

La pratique traditionnelle visée dans notre travail est l'activité insecticide de l'extrait végétale de *Nerium oleander* sur le puceron d'agrume (*Aphis spiraecola*).

Donc il convient, dès lors, de choisir un modèle expérimental et de définir les expériences à réaliser en fonction d'un objectif fixé.

L'objectif fixé se résume comme suit :

- Tester l'efficacité insecticide d'un extrait brut de laurier rose sur le puceron des agrumes.

Pour entamer cette étude, nous avons eu recours au matériel de manipulation cité ci-dessous:

- Matériel : balance analytique, tubes à essais, pipette, thermomètre (T, H%), boîtes de pétri aérées, pulvérisateur, étuve, Soxhlet, rota- vapeur.
- Solvants : l'eau distillée, pétrolium d'éther, méthanol, acétone.

IV.2. Matériel végétal :

La plante étudiée dans ce travail appartient au groupe des plantes toxiques : laurier rose connus par son nom botanique *Nerium oleander*.

IV.2.1. Récolte :

Nerium oleander appartient à la famille des *Apocynaceae*. La récolte a été réalisée au mois de Mars 2017, de la région de Megtaa à 20 Km à l'ouest de la ville de Mostaganem.

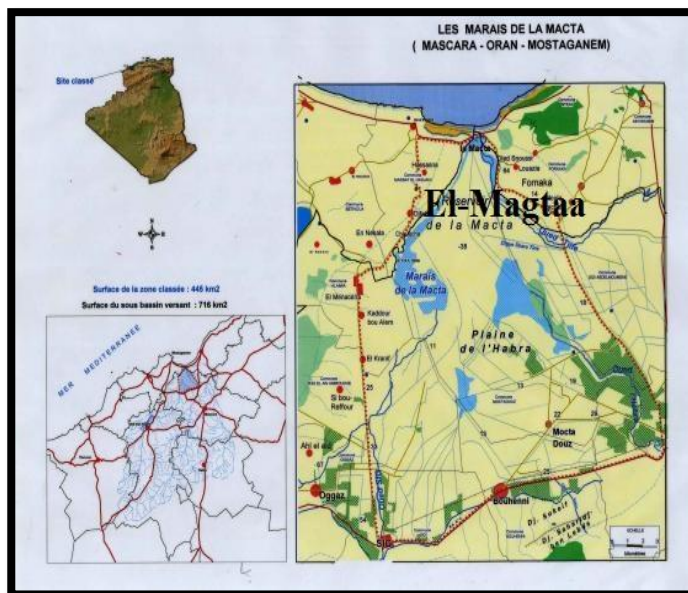


Figure 10 : La région de récolte de plante (*Nerium oleander*) (Google earth 2017)

Le tableau suivant résume les caractéristiques de l'espèce et le type d'extrait utilisé :

Tableau 1 : Caractéristiques de l'espèce végétale testée pour son activité contre le puceron d'agrumes (*A. spiraecola*)

Plante	Laurier rose
Caractéristiques	
Famille	Apocynaceae
Nom scientifique	<i>Nerium oleander</i>
Partie utilisé	Les feuilles
Lieu de récolte	El-Megtaa
Date	Mars
Type d'extrait : Extrait Hydro-alcoolique	Extrait hydro-méthanoïque

IV.2.2. Méthodes d'extractions (L'extracteur de soxhlet) :**IV.2.2.1. Principe :**

Le principe est le même que pour toute extraction, mais ici se pose le problème de la diffusion de solvant dans la phase solide, qui peut être très lente. Il faut réaliser un très grand nombre d'extractions successives pour obtenir une séparation satisfaisante.

L'extracteur de soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide-liquide (**Penchev, 2010**). Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.

Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais.

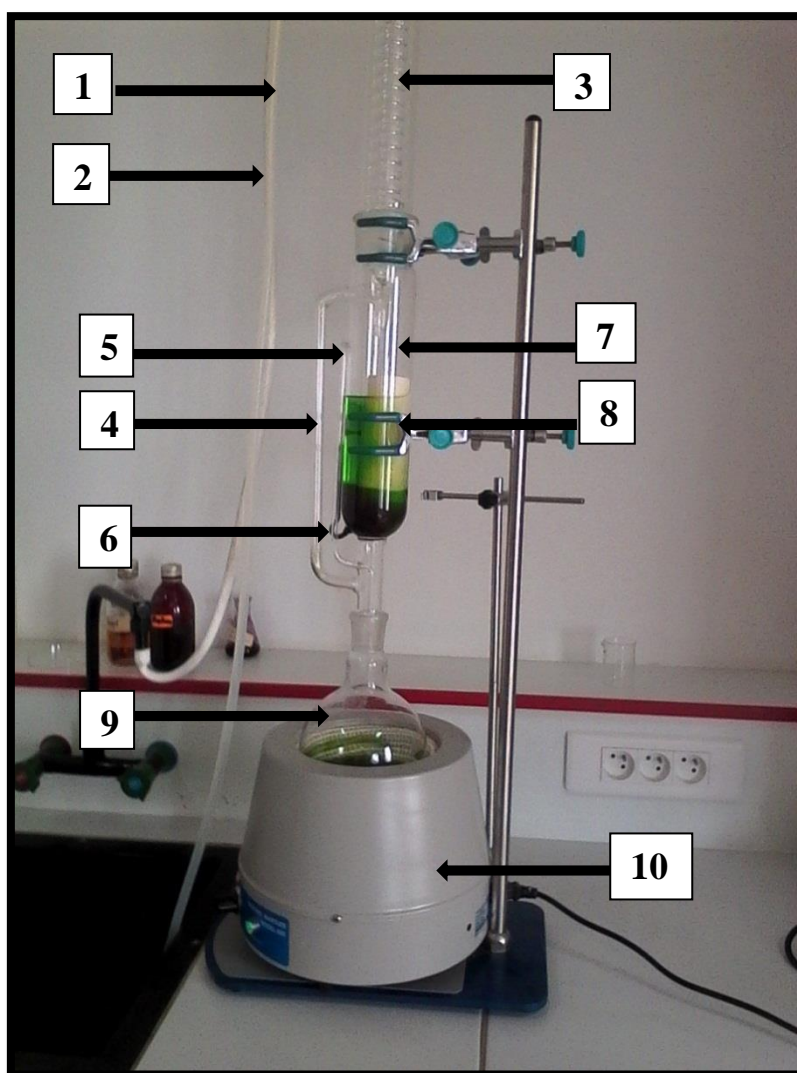
Le contact entre le solvant et le produit à extraire pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant (**Penchev, 2010**).

III.2.2.2 .Domaine d'application :

L'appareil peut être utilisé pour :

- ✓ L'extraction d'un composé soluble dans le solvant utilisé : les impuretés (insolubles) restent dans la cartouche, le composé se concentre dans le ballon, dissout dans le solvant. Si la solubilité du composé n'est pas très grande, on pourra même observer sa recristallisation lors du refroidissement du ballon, après avoir arrêté le fonctionnement de l'appareil (**Penchev, 2010**).
- ✓ Le lavage d'un composé solide par un solvant (à condition que ce composé soit totalement insoluble dans ce solvant) (**Penchev, 2010**).

La figure suivante présente le Montage d'un extracteur de type Soxhlet :



1. Sortie de l'eau de refroidissement
2. Entrée de l'eau de refroidissement
3. Condensateur
4. Retour de distillation (tube d'adduction)
5. Haut du siphon

6. Sortie du siphon
7. Corps en verre
8. Filtre
9. Ballon à col rodé
10. Chauffe ballon

Figure11: Montage d'un extracteur de type soxhlet (Originale, 2017).

IV.3. Préparation de l'extrait hydro méthanoïque :

Les parties aériennes de la plante utilisée (les feuilles fraîches) doivent être (jeunes, lavées à l'eau courante et découpées), et séchées dans l'étuve. Ensuite, directement broyé au mortier avant qu'elles subissent une extraction, l'extrait hydro-méthanoïque des feuilles fraîches du *N. oleander* a été préparé selon la méthode décrite par (Jordan *et al.*2009) dont les principales étapes sont résumées sur le schéma 1°.

L'extraction de la plante a été réalisée au laboratoire de recherche protection des végétaux de l'université Abdelhamid Ibn Badis.

IV.3.1. Mode opératoire :

Au début, 30g de l'échantillon à extraire est traité par un solvant (petroleum d'ether) qui permet la délipidation des feuilles, puis laisser à sécher 10min à la température ambiante. Le traitement se fait sous la hotte.

Après la délipidation, l'échantillon est introduit dans une cartouche placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant porté par un ballon contenant le solvant d'extraction (un mélange hydro-méthanoïque). En chauffant, le solvant s'évapore, se condense dans le réfrigérant, retombe dans l'extracteur, solubilise les principes actifs et retourne dans le ballon de récupération : l'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à épuisement total de la plante (épuisement pour 5 cycles), donc l'extraction est arrêtée.

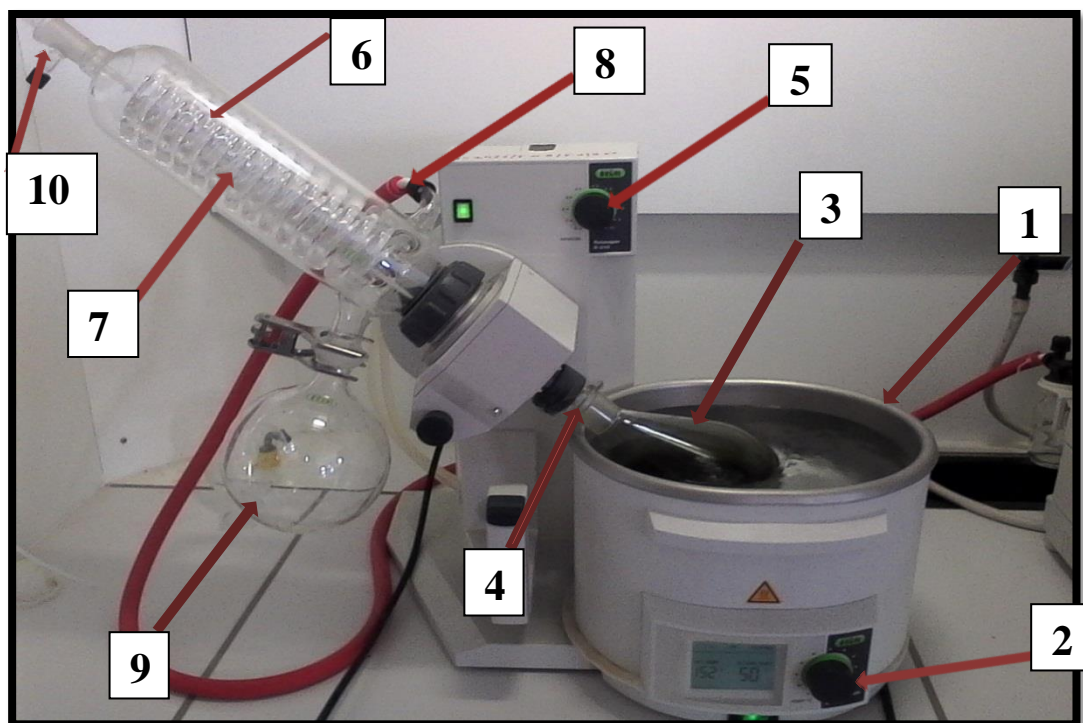
Le temps de traitement est différent selon le solvant et le contenu du ballon (solvant plus matières solubilisées) est concentré à l'aide du rotavapeur pour éliminer le solvant.

IV.4.L'évaporateur rotatif :

L'évaporateur rotatif utilise une technique rapide et efficace de séparation : elle permet l'extraction d'un solvant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite (Fig. 14).

Pour estimer la température d'ébullition d'un solvant sous pression réduite, utiliser les abaques (Sourisseau, 2007).

- Le méthanol s'évapore par le rotavapeur à 65°C (Hireche, 2013).



1. Bain marie d'eau distillée	6. Réfrigérant
2. Thermostat	7. Entrée et sortie d'eau du réfrigérant
3. Ballon contenant le solvant à extraire	8. Connexion à la trompe à eau : notice Trompe à eau
4. Conduit de vapeur	9. Ballon récepteur du solvant extrait
5. Bouton pour le réglage de la vitesse Derotation du ballon	10. Robinet de mise sous vide

Figure 12 : Montage de l'évaporateur rotatif (Originale, 2017)

L'extrait brut obtenu est conservé dans un flacon sombre «sous l'abri de la lumière» bien fermé à une température inférieure à 6°C jusqu'à leur usage (**Hireche, 2013**).

A) Protocole du travail : Les étapes d'extraction hydro-méthanoïque des feuilles de laurier rose par soxhlet :

a) Préparation de la solution méthanoïque :

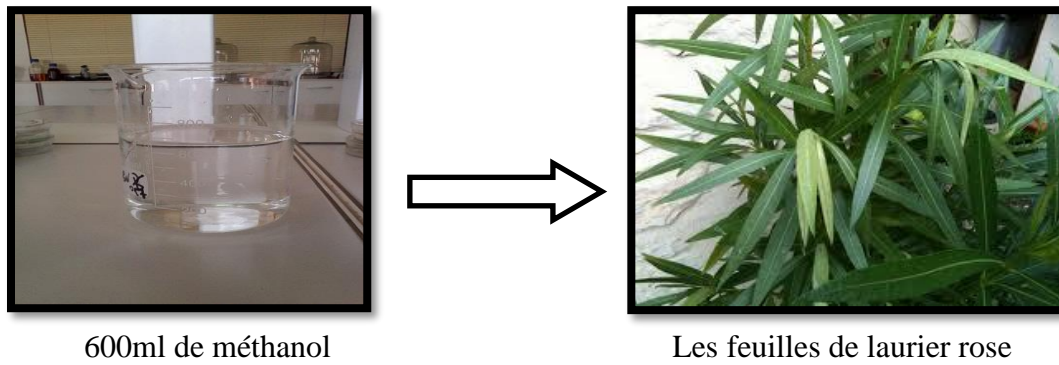


Figure 13 : Eléments de la préparation de la solution méthanoïque

b) Délipidation des feuilles fraîches :

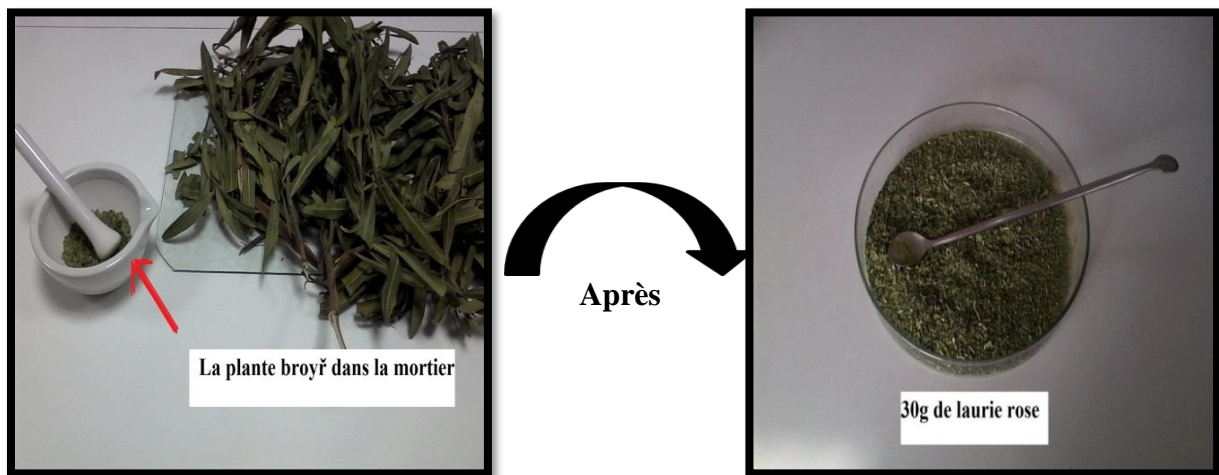


Figure14 : 30g de feuilles fraîches découpée

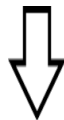


Figure15 : Traitement des feuilles découpées par pétroleum d'éther (le traitement se fait sous la hotte)-
laissé les feuilles séchés 10 min)

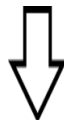
d) L'extraction :



Figure 16 : Mettre les feuilles dans la cartouche du soxhlet



Arrêter l'extraction après 5 cycles (durée : 1h et demi)



Récupérer l'extrait méthanoïque obtenu et le conserver le à 6C°

e) L'évaporation du solvant :

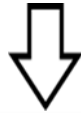


Figure17 : Passer l'extrait hydro-alcoolique sous rota-vapeur afin d'évaporer le solvant (méthanol)



Récupérer l'extrait brut dans des tubes sombre. Le conserver à 6C° jusqu'à utilisation

Planche 1 : Protocol d'extraction

f) Calculer le rendement d'extraction

IV.5. Le rendement d'extraction :

Après chaque extraction, on calcule le rendement d'extraction. Le rendement, exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ, est déterminé par la relation suivante :

$$R = (M_{\text{ext}}) \times 100 / M_{\text{éch}}$$

R : Rendement (en%)

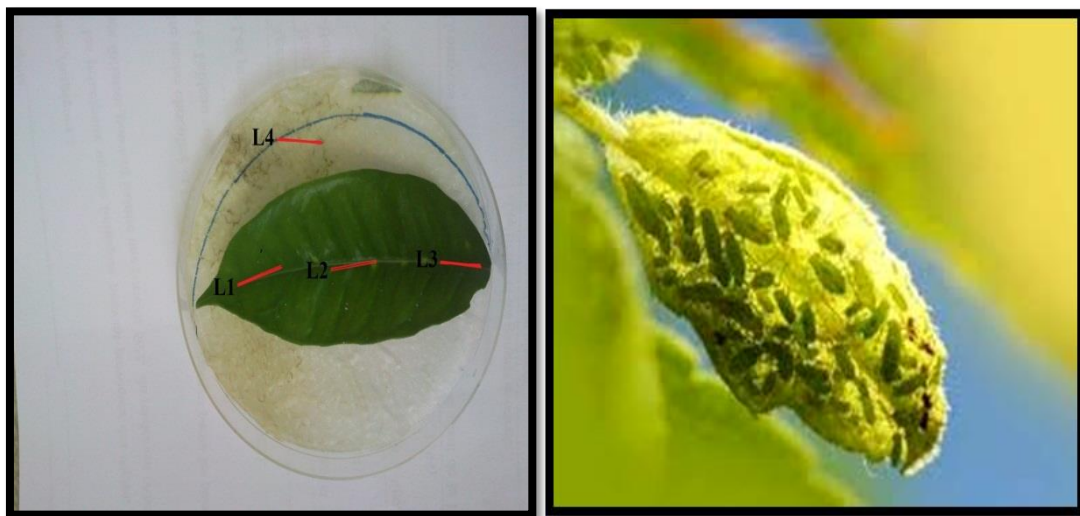
Mext : est la masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en g

Méch : est la masse de l'échantillon végétal en g (Clémence et Dongmo, 2009)

IV.6. Matériel animal

Les tests insecticides ont été effectués au laboratoire de recherche protection des végétaux.

Les pucerons sont de petits insectes qui peuvent provoquer des dommages importants aux plantes en suçant leurs sèves, provoquant une perte de rendement et un affaiblissement des plantes. Nous nous sommes intéressés dans notre étude à traiter les larves des différents stades du puceron *A. spiraeicola* : L1, L2, L3, L4 (Fig. 18).



**Figure 18 : Les larves de puceron d'agrume (*A. spiraeicola*)
(Originale, 2017)**

IV.6.1. Collecte des larves :

Les larves d'*A. Spiraeicola* ont été collectés au mois de mai 2017 dans un champ expérimental exempt de tout traitement aux pesticides situé dans une station agronomique. Au niveau de cette station nous avons fait le prélèvement des feuilles infestées d'agrume.

Cette station est située dans la commune de Mazargan à 4km au sud de Mostaganem entre 35°35'35", de l'altitude et 0°,44' ,44'' de longitude.

IV.6.2. Test de toxicité :

Les tests ont été effectués dans les conditions de températures de $26\pm 3^{\circ}\text{C}$, d'une humidité relative de $42\pm 5\%$ et d'une photopériode naturelle.

Les concentrations de l'extrait (méthanoïques) ont été testées : à raison de 10%, 20%, 30% ,40% et 50% et deux témoin traité avec l'eau distillée et l'acétone.

IV.6.2.1. Test par contact :

Afin de tester l'activité insecticide de l'extrait de laurier rose sur le puceron d'agrume (*A. spiraeicola*), les larves de ce dernier ont été prélevées à l'aide d'un pinceau et mise dans des boîtes de pétri aérées de 9cm de diamètre et de 1,8cm de hauteur contenant l'eau distillée.

Chaque boîte porte une jeune feuille d'agrume saine qui servira de support de nourriture pour la larve.

Sur la feuille est déposé l'insecte. Les feuilles ont été changées quotidiennement jusqu'à la mort des larves.

Le traitement est réalisé par pulvérisation directe de larves placées dans 28 boîtes de Pétri, portant chacune 5 individus par boîte.

Le même nombre de larves a été placé dans les deux témoins pulvérisé par l'eau distillée et l'acétone.

Chaque dose de traitement est pulvérisée dans chaque boîte. Après traitement les boîtes sont bien fermées avec le parafilm (Fig. 19).

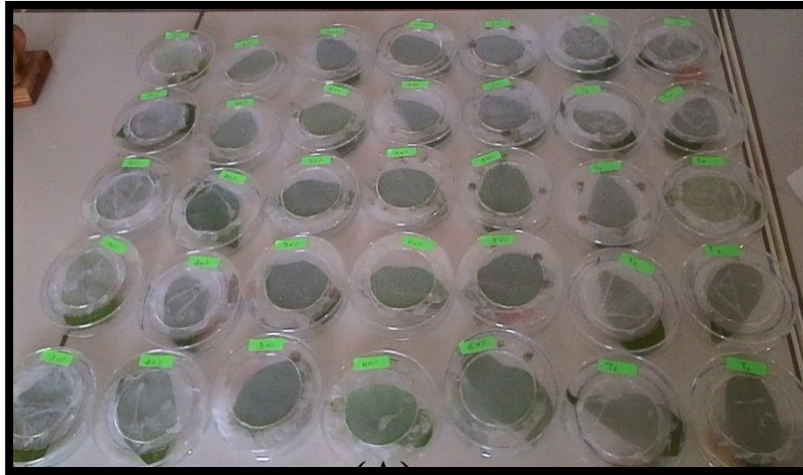


Figure 19 : Disposition des boîtes de Pétri contenant les larves du puceron d'agrumes (*A. spiraecola*) (Originale, 2017)

a. Paramètres étudiés :

Nous avons choisi essentiellement 1 seul paramètre : l'effet des différentes concentrations (10%, 20%, 30%, 40% et 50%) de l'extrait de laurier rose sur la mortalité du puceron d'agrumes à l'échelle chronologique, après (24h, 48h, 72h, 4J et 5J du traitement).

L'observation des résultats de mortalité se fait sous une loupe binoculaire (Fig.20).

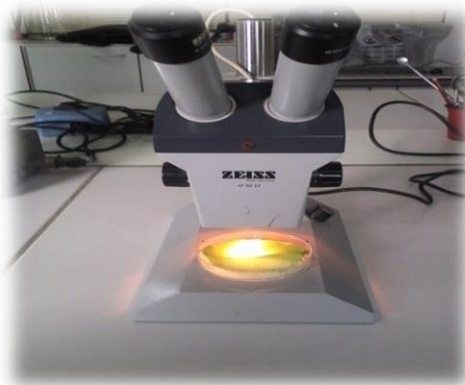


Figure20: Loupe binoculaire (Originale, 2017)

IV.6.3. Taux de mortalité :

Le taux de mortalité (%) est déterminé pour chaque traitement après 24h, 48h, 72h, 4j et 5j, après la pulvérisation.

Le test est considéré valide si le pourcentage de mortalité chez les témoins est inférieur à 5% ou compris entre 5% et 20%.

Le taux de mortalité larvaire en fonction du temps de contact a été estimé selon la formule d'Abbot (**Busvine, 1981 ; Boukhris, 2009**).

$$\mathbf{Mcc\% = (N_m/N_v) * 100}$$

Mcc% : Mortalité des insectes cumulée

Nm : Nombre des insectes morts

Nv : Nombre des insectes vives

Si le taux de mortalité chez les témoins est compris entre 5% et 20%, la mortalité après exposition doit être corrigée en utilisant la formule d'Abbott (**OMS, 2004a**).

Dans cette formule :

$$\mathbf{Mc\% = \frac{(M_0\% - M_t\%)}{(100 - M_t\%)} \times 100}$$

Mc% : Mortalité des insectes corrigée.

M₀% : Mortalité des insectes observée après pulvérisation.

M_t% : Mortalité des insectes observée dans le témoin.

Les taux de mortalité ont été transformés en probit à l'aide d'une table, puis l'équation de régression linéaire du probit a été déterminée en fonction de la concentration du produit (**Wabo-poné et al., 2005**).

IV.6.3.1. Détermination de la DL50 et DL90 :

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL50 et DL90 qui représentent les quantités de substance toxique entraînant la mort de 50% et 90% d'individus d'un même lot respectivement.

La DL50 et la DL90 sont calculées à partir de l'équation de la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des concentrations de traitement. La formule de Schneider et la table des probits sont utilisées à

cet effet, $y=a+bx$, on détermine la dose qui correspond à un probit de 50% et de 90% de mortalité (Wabo-Poné, 2005).

IV.6.3.2. Analyse statistique :

A fin de déterminer s'il y a lieu une différence statistique significative parmi les résultats obtenu pour les tests insecticides. L'analyse de la variance (ANOVA) et le test de Newman-Keuls sont été effectués ($P=0.05$) avec le logiciel STATBOX.

Selon Bouras et Benhamza (2013), la signification des codes et comme suit :

- 0*** : hautement significatif
- 0.001** : très significatif
- 0.01* : significatif
- 0.05 : moyennement significatif
- 0.1: peu significatif

V.1. Extraction :

La méthode d'extraction doit permettre l'extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique.

La figure (21) représente le début et la fin de notre extraction par soxhlet :

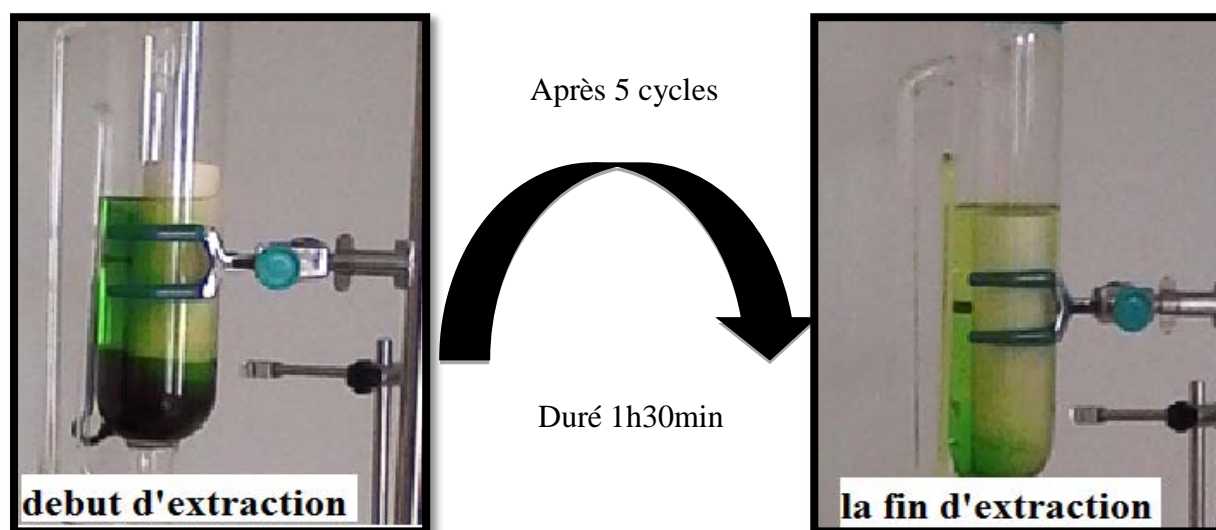


Figure21 : début et la fin d'extraction (Originale, 2017)

Suite aux observations réalisés nous pouvant mettre en relief l'importance des cycles d'extraction sur la qualité d'extraction en permettant d'avoir un maximum de principes actifs.

V.1.1. Taux d'humidité de la matière végétale :

L'eau est indispensable à la plante comme à tout être vivant, elle assure la rigidité des tissus par sa pression sur les parois cellulaires, par conséquent elle contribue au port des végétaux, sans elle ils flétrissent. L'eau ainsi joue un rôle mécanique important pour le mouvement des divers organes (ouverture des pétales, de feuilles, d'étamines, et des stomates), elle est considérée comme un milieu cellulaire, un véhicule des substances nutritives et elle constitue les réactions biochimiques (Soltner, 2001).

Les analyses de nos échantillons ont révélé un taux d'humidité égale à 25%, ce qui signifie que les feuilles de *N. oleander* est très riche en matière sèche avec un taux d'environ 75%, comme l'indique la (Fig.22).

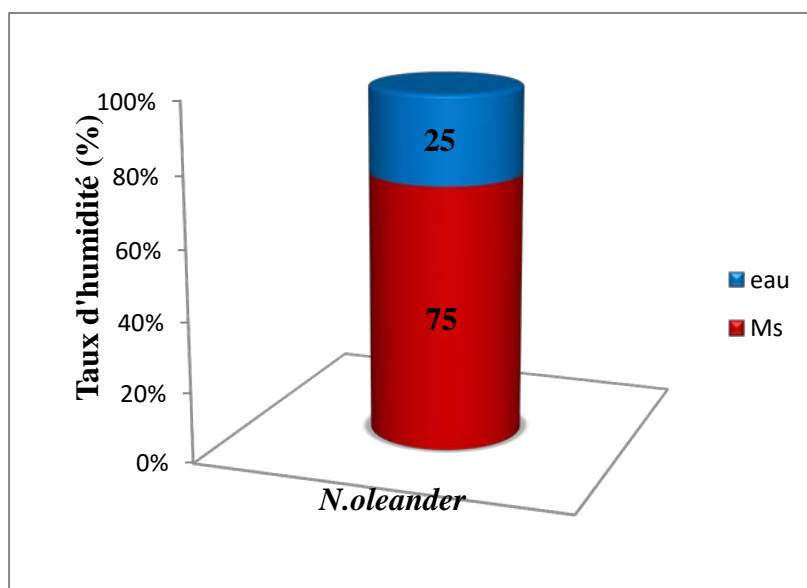


Figure 22 : Taux d'humidité de *N. Oleander*

V.1.2 .Rendement :

L'extraction par soxhlet des feuilles fraîches de plante toxique : *N. Oleander* est traité par solvant : hydro-méthanoïque.

V.1.2.1 L'extrait méthanoïque de *N. Oleander* :

Dans le cas de *N. Oleander*, les résultats obtenus pour le solvant en termes de rendement global se représentent sur la figure 23 :

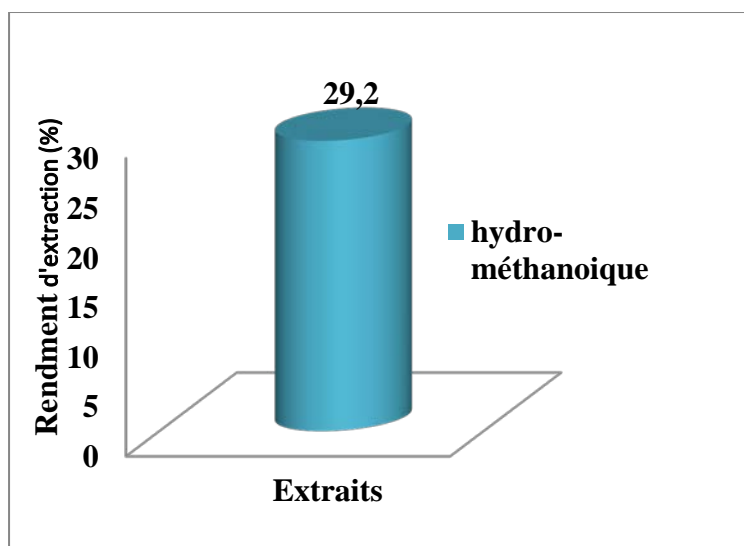


Figure 23 :L'extrait méthanoïque des feuilles fraîches de *N. Oleander*

V.1.3.. Les facteurs influençant l'extraction de type «soxhlet» et le choix de

Solvant d'extraction :

Dans le cas de l'extraction par solvant organique à l'aide d'un extracteur de type «soxhlet», plusieurs facteurs interviennent tels que : le temps d'extraction ou le nombre de cycles nécessaires, le début de condensation, le rapport solvant/matière végétales et le taux de remplissage de la cartouche, ainsi que la nature du solvant (**Luque et al., 1998**).

Nombreux auteurs ont étudié l'influence du solvant d'extraction sur les rendements d'extraction des principes actifs de source végétale (**Bonnaillie et al.2012 ; Jokié et al., 2010**). Notre étude est basée sur le même principe en utilisant le type de solvant à savoir le méthanol sous sa forme hydro-alcoolique.

Selon la littérature, le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction des principes actifs surtout les composés phénoliques (**Felleh et al., 2008**). En effet, le méthanol est utilisé pour l'extraction suite à un rôle protecteur. Il peut empêcher certains principes actifs de la plante comme les composés phénoliques d'être oxydées par les enzymes.

Mohadjerani (2012) a démontré que le méthanol aqueux et le méthanol pur ont été les solvants les plus efficaces pour l'extraction des composés phénoliques des feuilles et des fleurs de *N. oleander* en Iran. Aussi **Zibbu et batra (2011)** ont prouvé que la quantité de polyphénols totaux était plus élevée dans l'extrait de méthanol.

Vuorela en 2005 a signalé que le méthanol aqueux 70% est deux fois plus efficace que le méthanol pur, pour l'extraction des composés phénoliques de graines de colza, il apparait que la grande majorité des polyphénols ne sont pas hydrosolubles. Il est préférable d'employer des mélanges de solvant organique approprié avec l'eau. En revanche **Abbad (2013)** a noté que le rendement d'extraction du *Thymus vulgaris* et du *Rosmarinus officinalis* avec du méthanol pur a été plus élevé par rapport à celui dilué à 50%.

Les travaux conduits par **Katalinic et al. (2010)**, **Mulinaccie et al. (2004)** et par **Koffi et al. (2010)** confirment notre choix pour l'utilisation du mélange hydro-alcoolique en indiquant que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux.

V.2. Activité insecticide:

En Algérie, les études menées sur l'activité des extraits de plante toxique vis à-vis des larves d'homoptères sont très limitées. Dans ce contexte nous avons essayé d'évaluer l'activité insecticide d'extrait hydro-méthanoïque des feuilles fraîches de plante toxique : *N. oleander*. Les insectes d'*A. Spiraecola* ont été exposées aux différents traitements des extraits utilisés à des durées différentes à savoir : 24h, 48h, 72h, 5j.

Dès le début du traitement, quelques soient les substances testées, l'activité locomotrice des insectes est importante puis diminue progressivement. Les insectes se retournent alors sur le dos puis présentent des mouvements désordonnés.

Durant les 24h qui suivent l'ouverture des boîtes, soit les insectes meurent, soit ils retrouvent leur activité locomotrice normale. C'est pourquoi le taux de mortalité est déterminé 24h après la fin des traitements.

Les résultats obtenus ont induit à une mortalité des pucerons traités après 24h ce qui s'explique par l'activité insecticide qui n'est pas liée à la durée d'exposition au traitement mais par l'action des extraits qui ont exercé un effet immédiat. Par ailleurs, les insectes vivants ont pu poursuivre leur développement après 24h pour atteindre le stade adulte.

Aucune mortalité n'a été enregistrée dans tous les lots témoins qu'on a testés après 24h.

V.2.1. L'activité larvicide des extraits de *N. oleander* :

La figure 22 résume les réponses des larves d'*A. spiraecola* à différentes concentrations (10, 20, 30, 40 et 50%) de l'extrait méthanoïque de *N. oleander* après 5 jours du traitement.

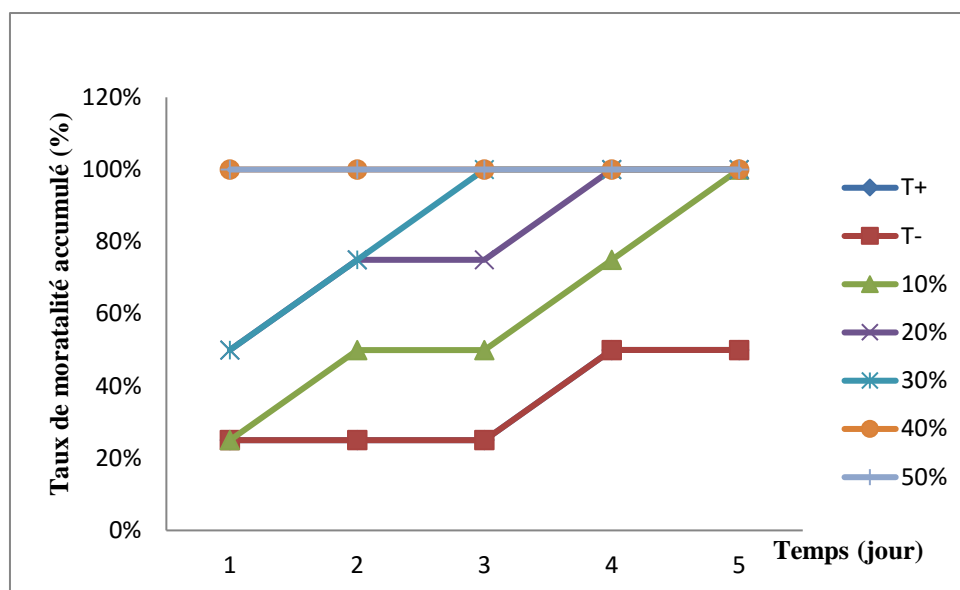


Figure 24 : L'évolution de l'activité larvicide de l'extrait hydro-méthanoïque de *N. oleander* sur *A. spiraecola* (Taux de mortalité cumulée)

La figure 24 fait ressortir que l'extrait hydro-méthanoïque de *N. oleander* a montré une efficacité larvicide plus importante par rapport au témoin. Cette activité augmente proportionnellement avec les concentrations testées et elle varie d'un extrait à l'autre pour la même plante. Le taux de mortalité des larves a atteint des taux inférieurs à 75% pour les concentrations (10, 20%) et 100% pour les concentrations (30, 40 et 50%).

D'après nos résultats, la concentration 30% est retenue comme la dose la plus efficace sur les larves et représente un effet toxique.

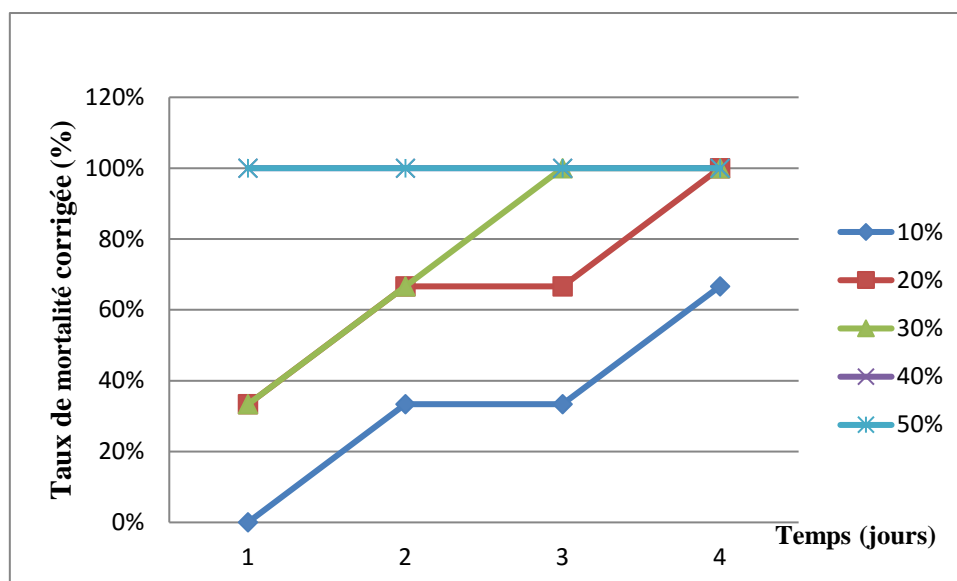


Figure 25 : L'évolution de l'activité larvicide de l'extrait hydro-méthanoïque de *N. oleander* sur *A. spiraecola* (Taux de mortalité corrigée)

A travers la figure 25, les observations indiquent que les concentrations de l'extrait hydro-méthanoïque 10, 20, et 30% ont provoqué une mortalité respective de 33, 67 et 100% au 3^{ème} jour. En effet, l'effet larvicide le plus important a été obtenu à 30% avec des taux de mortalité correspond à 100%.

▪ **Les doses létales 50 et 90 :**

À partir de l'équation de la droite de régression représentée dans la figure 26 qui correspond à la mortalité corrigée en fonction des concentrations de l'extrait de *N. oleander* sur *A. spiraecola*. La DL50 obtenue a été égale à 30% et la DL90 à 54%.

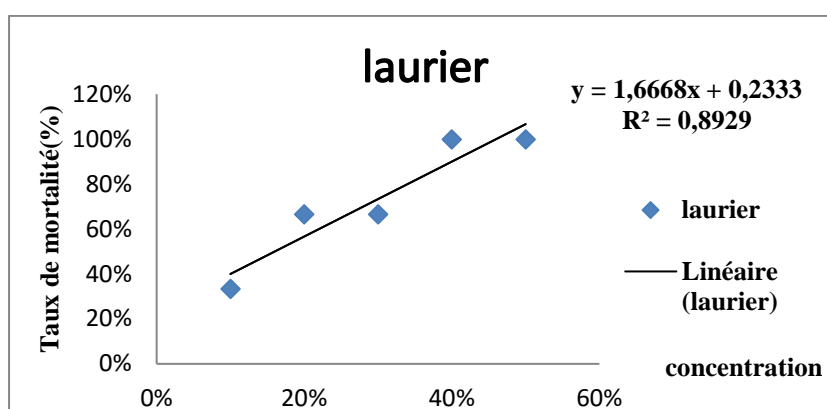


Figure26: Courbe de tendance linéaire de l'extrait hydro-méthanoïque de *N. oleander* (Originale, 2017)

Ces résultats montrent que *N. oleander* nécessite une dose faible pour tuer 50% et une dose moyenne pour tuer 90% de la population des insectes traitées. Ce qui signifie que l'extrait de *N. oleander* est moyennement efficace pour le traitement d'*A. spiraeicola*. Le coefficient de corrélation de mortalité est de 0.892.

▪ **Les analyses statistiques :**

L'analyse de la variance à deux critères de classification indique une différence non significative pour le facteur 1 (dose) ($F= 1.618$ et $P= 0,20042$) et aussi pour le facteur 2 (temps) ($F=0,393$ et $p=0,8123$).

Le test de NEWMAN-KEULS est non significatif.

Le facteur de traitement par les extraits végétaux n'est pas significatif, on peut justifier ces résultats par la présence des molécules agissant par des mécanismes biologiquement semblables dans les extraits brutes par exemples le groupe des polyphénols qui est présent presque dans tous les extraits végétaux brutes.

Conclusion générale

Depuis 2003 des traitements à base de plantes sont exploités sous différentes formes. Les résultats positifs obtenus les années précédentes ont permis aux chercheurs de valider l'utilisation d'extrait de plantes sur différents pucerons.

Notre étude a ciblé la recherche de moyen de contrôle des populations du puceron d'Agrumes *Aphis spiraecola*, par la recherche d'extrait végétal naturel, comme biocide.

Les tests utilisent les propriétés insecticides de l'extrait de *Nerium oleander* (Laurier rose), ils s'emploient en pulvérisation et agissent par contact sur les pucerons pour tenter de limiter leurs développements.

Pour conclure, nous pouvons affirmer que l'extrait de *N. oleander* a une activité insecticide certaine.

N. oleander contient des produits chimiques connus dans la bibliographie par leur activité toxique sur les insectes. Ceci nous amène à dire que la plante étudiée est prometteuse comme source de bioinsecticides et se prête bien à des investigations dans le domaine de la lutte biologique.

En agriculture biologique, les moyens de lutte contre les pucerons en général, sont très restreints. Parmi les insecticides végétaux homologués, on trouve pour certains pucerons, l'extrait de plantes, d'une efficacité moyenne avec des effets secondaires sur les auxiliaires importants.

La recherche de stratégies de traitements plus respectueuses de la faune auxiliaire et de l'environnement reste une piste à creuser.

Références bibliographiques

A :

Adom. R. O., Gachichi. J. W., Onegi. B., Tamale. J., Apio. S. O. (2003) -The cardiogenic effect of the crude ethanolic extract of *Nerium oleander* in the isolated guinea pig hearts. African Health sciences. vol. 3, pp. 77-82.

Almahy. H. A et Khalid. H. E. (2006)- Chemical examination of the leaves of *Nerium oleander*, *Asian Journal of Plant Sciences*3., vol. 2, pp. 177-180.

Anonyme A (2006)- Espace pour la vie, *Pucerons*, Montréal (Québec) ; Mai 2006)

Anonyme B(2006)- Développement durable, environnement et lutte contre les changements climatiques.

Anonyme C, 2010.

Auget J, Cadoux F, Thibout E (1999)- Allium ssp.thiosulfates as substitute fumigants for methyl bromide. *Pestic.Sci.*, 55.P 200-202.

B :

Beaslev V,Poppenga, RH (1999)- *Veterinary Toxicology International Veterinary Information Service (www.ivis.org).*New-York, USA.

Benayad N (2008)- Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées .Projet de recherche .Rapport d'activité. Faculté des sciences –Rabat, Maroc,.

Bouhadiba R (2014)- Mémoire de Master: Etude de l'effet insecticide de *Mentha piperita* et de *Nerium oleander* sur *Aphis spiraeicola*.P27-32 .

Boukhris Alaoui, M (2009)- Activité larvicide des extrait de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires Faculté des Sciences et Techniques Fès-Master sciences et techniques.P59.

Bourgeois B, Incagnoli P, Hanna J, Tirard V (2005)- Traitement par anticorps antidigitalique d'une Intoxication volontaire par laurier rose. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation.*, vol. 24, pp. 640-642.

Brun P (1979)-Les ravageurs animaux des agrumes. *Revue information SOMIVAC* N°91.

Références bibliographiques

Brun P (1973)- Les ravageurs animaux et les moyens de lutte en agrumiculture. Revue SOMIVAC N°68.

Bruneton J (1999)-Pharmacognosie, Phytochimie- Plantes médicinales-Techniques et documentations, 3ème édition, Lavoisier, pp. 463, 661-670,721-730.

Bruneton J (2001)- Plantes toxiques :-végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2ème édition, pp.129-136.

Busvine J R.(1987)- Méthodes recommandées pour la mesure de la résistance des ravageurs aux pesticides, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome.P161.

C:

Charnot A(1945)- La toxicologie au Maroc. Mémoires de la société des sciences naturelles du Maroc.P:475–479.

Chopra L C, Abrol B K, Handa K L (1971)- Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Première partie, pp. 45-50.

Clémence Rosine , Dongmo Momo(2009)- Clinique et pharmacologie Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'acalyphamanniana (euphorbiacées) et tristemma hirtum (mélastomatacées). Université de Dschang-Master en biochimie.P34.

D :

Delille L (2007)- Les plantes médicinales d'Algérie, Berti éditions, pp. 141-142. Alger.

Dixon A FG(1989)- Aphide Ecologie: une approche d'optimisation. Chapman et HALL.p 300

Drechsel DA,Patel,M(2008)-Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. Free radical Biology & Medicine ; 44. P1873-1886.

Références bibliographiques

E :

El Modafar C, Tantaoui A, El Boustani (2000) - Time course accumulation and Fungitoxicity of date palm phytoalexins towards *Fusarium oxysporum* f.so.albedinis cell wall-degading enzymes.j.Phytophthol. 148. P 405-411.

F :

Fraval A (2006)- Nymphes de thrips du blé, au printemps, dans un champ de blé, Insectes 29 : n°143.

Philogène BJR, Regnault-Roger C, Vincent C (2008)- Biopesticides d'origine végétale: bilan et perspectives. In : Biopesticides d'origine végétale, Regnault-Roger C., Philogène BJR, Vincent C. (coord) , 2nd edition , Tec et Doc Lavoisier, PARIS, p. 1-24

G :

Grainge M and S Ahmed (1988) - Handbook of Plants with Pest Control Properties. John Wiley & Sons, New York.

H :

Hanson J R (1985) -The chemistry of natural products, (R. H. Thomson ed.), chapter 4. Blackie USA:

Harmand V (2012)-Analyse fonctionnelle de deux Heavy Metal ATPase de *Nicotiana tabacum* Centre International d'Etudes Supérieures en Sciences Agronomiques-Montpellier SupAgro. P13.

Hireche M (2013)- Dosage des polyphénols de la tomate et étude de leur pouvoir anti oxydant. Université de Hassiba Ben Bouali Chlef Algérie.

Huq M M, Jabbar A, Rashid M A, Hasan C M (1999) -A novel antibacterial and cardiac steroid from the roots of *Nerium oleander*. *Fitoterapia.*, vol. **70**, pp. 5-9.

Hussain M A et Gorski MS (2004)- Antimicrobial activity of *Nerium oleander* Linn.Assian Journal of Plant Sciences3. Vol 2, P 177-180.

Références bibliographiques

I :

Ibrahim K A, Khalagi S, Youssef D, Khan I, Mesbah M (2007)- Stimulation of oleander in production by combined *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation and fungal elicitation in *Nerium oleander* cell cultures. *Enzyme and Microbial Technology.*, vol. 41. pp. 331-336

Iskenderoglu S N (1995) - Bitki Eksrakları ve Atıklarının Yabancıot Türlerinin Gelismesine Olan Biyoherbisit Etkisinin Arastırılması. Cukurova Universitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi (in Turk with English summary). 121 p.

J :

Jorddan M, Martinez C et al.(2009) - Polyphenolic extract and essential oil quality of *Thymus zygis* shrubs cultivated under different watering levels .*Industrial crops and product*, vol.29, no 1.P145-153.

Jourdan et Mille (2006)- [Statut pour la Nouvelle-Calédonie] Jourdan, H. & Mille, C. 2006. Les invertébrés introduits dans l'archipel néo-calédonien : espèces envahissantes et potentiellement envahissantes. Première évaluation et recommandations pour leur gestion. *IRD, Espèces envahissantes dans l'archipel néo-calédonien*, 163-214.

Judd W S et al. (2002)-dans *Botanique systématique*.P366

K :

Kadioglu I and Y Yanar (2004) - Allelopathic Effects of Plant Extracts against Seed Germination of Some Weeds izzet. *Asian Journal of Plant Sciences* 3(4):472-475.

Karaaltın S L, Idikut O S Uslu, A Erol (2004)- Zakkum bitkisinin kok, govde, yaprak ve tomurcuk ekstraktların fasulye ve bugday tohumlarının cimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri (in Turk with English summary). *KSU Fen ve Mühendislik Dergisi* 7:111-115.

Khanh T D, N H Hong, T D Xuan and I M Chung (2005)- Paddy weed control by medicinal and leguminous plants from Southeast Asia. *Crop Protection* 24:421-431.

Références bibliographiques

L:

Laib D (2013)- Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Cladosporium* sp. Isolé du laurier rose *Nerium oleander*. (Apocynaceae, Gentiandes) sur la bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae).P1

Lecoq H (1996) - Les besoins trophiques et thermiques des larves de la coccinelle *Harmonia axyridis* Pallas. Agronomie 5 (5), 417-421. Le courrier de l'environnement de l'INRA.

Lewonczuk W(2004)- Intoxication des animaux par le laurier rose (*Nerium oleander* L.).Etude de cas cliniques Thèse de doctorat Vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse.P74

Loukia C, Argyriou (1970)- Les Aphides nuisibles aux agrumes en Grèce et leurs ennemis naturels. Anns.inst. Phytopath. Benaki. NS, 9: 114- 117.

M:

Mack RB. Med J. 1984- "To see a world in a grain of sand and a heaven in a wild flower"- oleander poisoning.Nov;45 (11):729-730.

Merghem R (2001)- Origine et biogénèse des molécules d'origine naturelle, importance pour l'industrie pharmaceutique. Proceedings du 1er Séminaire national sur les substances bioactives d'origine végétales .Mai 7et 8 Jijel (Algérie) P 105-111.

N:

NAS. 1969- Insect Pest Management and Control. National Academy of Science. Publ. 1695.

Nerio, L.S et al.,2010- Repellant activity of essential oil : à review.Bioresour.Tchnol.101.P 372-378.

O :

OMS (2004) - Lutte contre les vecteurs du paludisme.*WHO/CDS/WHOPES/2002.5Rev.1*

Osmani B (2014)- Mémoire de master Etude de l'activité larvicide des extraits hydro-alcoolique de *Nerium oleander* L. et *Ricinus communis* L. sur *Tuta absoluta* (Meyrick).P 42-47.

Références bibliographiques

Ozkan G, Sagdic O, Gokturk S, Unal O, Albayrak S (2010) -Study on chemical composition and biological activities oil and extract from *Salvia pisdica*.LWT food Sci.Technol., 43.P 186-190. 4.

P:

Pajot E, Regnault-R C (2008) -Stimulation des défenses naturelles des plantes et résistance induite: une nouvelle stratégie phytosanitaire? In: Regnault-Roger C., Philogène, B.J.R. and Vincent, C. (coord) Biopesticides d'origine végétale, 2nde édition Lavoisier, Paris, p. 231-258.

Paris R.R et Moyses H (1971)- Précis de matière médicale, pharmacognosie spéciale dicotylédones (tome III), pp.32-52.

Penchev P I (2010) - Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à bases et hautes pressions .P129.

Perera M R, Flores Vargas R D et G. Jones K (2005)- Identification DU puceron Espèces en Profilage de Le Utilisant ET de DÉSORPTION Protéines laser Assistée par matrice / temps-de masse de spectrométrie ionisation de vol. Entomologia Experimentalis et Applicata, 117: 243-247.

Powell G, Tosh C R et J Hardie (2006)- Hôte sélection des plantes par les pucerons: comportement, Perspectives d'évolution et appliquées. Annu. Rev. Entomol, 51. 309-330.

R:

Rattan RS (2010) - Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plantorigin. Crop Protect.29.P 913-920.

Regnault-Roger C (2005) - Molécules allélochimiques et extraits végétaux dans la protection des plantes: nature, rôle et bilan de leur utilisation au XXe siècle. In: Regnault-Roger, C. (coord) Enjeux Phytosanitaires pour l'Agriculture et l'Environnement. Lavoisier, Paris, France, pp. 625–650.

Regnault-Roger C, Philogène B (2008) - Biopesticides d'origines végétales : bilan et perspectives. Deuxième édition. Eddition Tec & Doc, Paris. P1-24.

Références bibliographiques

Regnault-Roger C, Silvy C, Alabouvette C (2005)- Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Lavoisier, Paris. P 849-880.

Ridings W H (1976) - Sphaeropsis witches' broom of *Nerium oleander*. Proc. Fla. State Hort. Soc., vol. **89**, pp. 302-303.

S :

Safadi R, Levy I, Med (1995) - Amitai Y, Caraco Y. Beneficial Effect of Digoxin-Specific Fab Antibody Fragments in Oleander Intoxication. Oct 23;155(19):2121-2125.

Schmutterer H (1992)- Higher plant as sources of novel pesticides. pp. 3-15. In D. Otto and B. Weber. Insecticides: Mechanism of Action and Resistance. Intercept Ltd Andover, UK.

Shumaik GM, Wu A, Ping A C, Med (1988) - Oleander poisoning: Treatment with digoxin-specific Fab antibody fragments. Ann. Emerg. Med. 1988; 17:732–735.

Sijelmassi A(1981)- Les plantes médicinales du Maroc. Edition la Vernec (2ème éd.) .

Sorensen J, et Foottit RG (1992)- Ordination dans l'étude de la morphologie, l'évolution et la systématique des insectes: applications et logiques génétiques quantitatifs. Elsevier, Amste.

Sourisseau S (2007)-Livre sur l'évaporateur rotatif, principe, Description, Utilisation.P7

Stary P, Leclant F, Lyon JP (1975)- Aphididés et Aphides (Hom) de Corse. Les Aphididés. Ann. Son. Entomol. Fr (N.S) 11-745-762.

T :

Tahiri A (2007) - Maladies virales des agrumes. Département de protection de plante. ENA Meknès.

TKachenko K (2004)-Colorado beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Chrysomelidae : Chrysomelinae)- atlas of leaf beetles of Russia.

W :

Wabo P, Mpoame J, Bilong M , Bilong CF, Kerboeuf D(2005)- Etude comparée *in vitro* de l'activité nématocicide de l'extrait éthanolique de la poudre d'écorce de *Canthium mannii* (*Rubiaceae*) et du Mébendasole.P2

Références bibliographiques

Ware GW(1991) - Fundamentals of Pesticides. A Self-Instruction Guide. 3rd ed. Thomson Pul. Fresno, CA.Washington, D.C.

Weinzeirl R (1998) - Botanicals insecticides, soaps and oils. pp. 101-121. *In* JE Rechcigl and NA Rechcigl. Biological, Biotechnological Control of Insects Pest in. Lewis Publi., Boca Raton, Florida.

Wilson, Edwardo (2003)-The encyclopedia of life. Trends in Ecology & Evolution, vol.18, no 2.P77-80.

Z:

Zagler A, Salvatore C, De Giorgi,F, Wiedermann C (2005) - «Dietary Poisoning with Veratrum album- report of two cases». Wiener Klinische Wochenschrift 117(3).P106-108.

Sites d'internet:

Google Earth 2015.[www.google.fr /earth](http://www.google.fr/earth).

Annexe

Tableau1 : taux de mortalité cumulé des *A. spiraeicola* traités par l'extrait de *N. oleander*

Jour concentration	1	2	3	4	5
T₀	25%	25%	25%	25%	25%
T₊	25%	25%	25%	25%	25%
10%	25%	50%	50%	75%	100%
20%	50%	75%	75%	100%	100%
30%	50%	75%	100%	100%	100%
40%	100%	100%	100%	100%	100%
50%	100%	100%	100%	100%	100%

Tableau2 : Taux de mortalité corrigée des *A. spiraeicola* traités par l'extrait de *N. oleander*

Jour concentration	1	2	3	4	5
10%	0%	33,33	33,33%	66,66%	100%
20%	33,33%	66,66	100%	100%	100%
30%	33,33	100%	100%	100%	100%
40%	100%	100%	100%	100%	100%
50%	100%	100%	100%	100%	100%

Tableau3 :analyse de variance

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	2,75	29	0,095				
VAR.FACTEUR 1	0,75	5	0,15	1,618	0,20042		
VAR.FACTEUR 2	0,146	4	0,036	0,393	0,81239		
VAR.RESIDUELLE 1	1,854	20	0,093			0,304	40,60%