

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

KEDDAR Nassima

BELAYACHI Kheira

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER II EN BIOLOGIE

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

THÈME

**Etude de l'effet insecticide des extraits polyphénols
et caroténoïdes de *Nerium oleander* sur *Aphis spiraecola***

Soutenue publiquement le 02/07/2018

DEVANT LE JURY

Président: Pr. BEKADA Ahmed

Pr.

Univ. Tissemsilt

Examinatrice: Dr. SAIAH Farida

MCB

Univ. Mostaganem

Promotrice: Dr. BOUALEM Malika

MCA

Univ. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire Protection des Végétaux

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

*Nous adressons nos sincères remerciements à Madame « **BOUALEM Malika** » maître de conférence (classe A) à la faculté SNV, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, d'avoir accepté de nous encadrer, nous la remercions pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude.*

Nous remercions les membres de jury, M. BEKKADA Ahmed et Mme SAÏAH Farida d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail.

*Nos sincères remerciements s'adresse à madame « **MOKHTAR Meriem** » maître de conférences classe A pour ses conseils et son aide.*

*Nous remercions vivement le Professeur **HALBOUCHE Miloud**, pour nous avoir accueillies au sein du laboratoire physiologie animale appliquée –INES – Mostaganem.*

Un grand merci aux collègues du travail des laboratoires de recherche-INES-Mostaganem, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicace

Je dédie ce travail A ma très chère Mère pour tous ses sacrifices, et son amour, pour tous les conseils que tu m'as prodigués et pour toutes les souffrances que tu as endurées, je te dis infiniment merci.

A mes frères et sœurs,

A toute ma famille.

A tout mes collègues et amis

A mes professeurs

KEDDAR NASSIMA

DEDICACE

Je dédie mon travail à :

Les plus chères dans ma vie, mes parents

Mes frères et ma sœur

Ma tante, Nassima, qui m'a poussé pour continuer mes études

*Toutes mes amies surtout mes collègues de travail pour leur aide et
soutien*

Je dédie mon travail aussi à :

*Madame Boualem Malika pour son soutien et son
encouragement aussi bien pour sa patience jusqu'à la*

fin de ce modeste travail

et un grand merci pour Mon binôme Keddar Nassima.

Kheira

Résumé

Les composés secondaires des plantes sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Ces composés sont très nombreux et variés, et certains sont largement distribués, comme les alcaloïdes, les tanins et les terpènes. Dans l'optique de rechercher des alternatives aux méthodes de lutte chimique, on a évalué en condition de laboratoire l'effet des caroténoïdes et polyphénols, extraits des feuilles du laurier rose (*Nerium oleander*) sur le puceron *Aphis spiraecola*. Les principes actifs à activité cardiotonique présents chez *Nerium oleander* sont l'oléandrine (ou folinérine), la nériine et la digitoxigénine. Cette composition chimique fait du laurier rose une plante toxique impliquée dans des accidents graves voire fatals. Les résultats obtenus ont révélé des taux de mortalité d'*Aphis spiraecola* de 81, 97%, cinq jours après le traitement par l'extrait polyphénolique avec la dose de 5%. Pour les doses de 20 et 40%, le taux de mortalité a atteint les 100 %, de même que pour les caroténoïdes avec 100% de mortalité au cinquième jour après traitement. Les résultats statistiques ont montré une variation très significative niveau $p=0,00$ par rapport au témoin. Les extraits polyphénoliques et caroténoïdes des feuilles de *N. oleander* présentent un puissant effet insecticide contre *A. spiraecola*, par conséquent, ils peuvent être intégrés dans la lutte contre les ravageuses des cultures.

Mots clés : *Nerium oleander* -*Aphis spiraecola* -extrait polyphénoliques -caroténoïdes-insecticide.

Abstract

Secondary plant compounds are often considered to be a defense of the producing plant against various organisms such as pathogens and pests. These compounds are very numerous and varied, and some are widely distributed, such as alkaloids, tannins and terpenes. In order to search for alternatives to chemical control methods, the effect of carotenoids and polyphenols extracted from oleander (*Nerium oleander*) leaves against *Aphis spiraecola* aphid was evaluated under laboratory conditions. The active principles with cardiotoxic activity present in *Nerium oleander* are oleandrin (or folinerine), nererin and digitoxigenin. This chemical composition makes oleander a poisonous plant involved in serious or even fatal accidents. The results obtained revealed mortality rates of 81.97% against *Aphis spiraecola* five days after treatment with the polyphenol extract with the 5% dose. For the doses of 20 and 40%, the mortality rate was 100%, and for the carotenoid the death rate was 100% five days after the treatment. The statistical results showed a very significant variation level $p = 0.00$ report to the witness. The polyphenolic and carotenoid extracts of *N. oleander* leaves have a strong insecticidal effect against *A. spiraecola*. Therefore, they can be integrated in the fight against crop pests.

Key words : *Nerium oleander* - *Aphis spiraecola* - polyphenol-carotenoid extract - insecticide.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Les stades phénologiques du laurier rose	05
Figure 02 : Quelques métabolites secondaires de <i>Nerium oleander</i>	08
Figure 03 : Schéma de l'anatomie générale d'un puceron	15
Figure 04 : Diversité des cycles de vie chez les pucerons	17
Figure 05 : Cycle biologique du puceron du soja.....	18
Figure 06 : Laurier rose.....	31
Figure 07 : <i>Aphis spiraecola</i>	32
Figure 08 : Préparation de l'extrait polyphénol par la méthode Aennouk et al avec petite modification	33
Figure 09 : Préparation de l'extrait caroténoïde par la méthode Aennouk et al avec petite modification	35
Figure 10 : Les dilutions de L'EPP.....	37
Figure 11 : Les dilutions de L'EC.....	37
Figure 12 : La préparation du test de l'effet insecticide des extraits polyphénols et caroténoïdes de <i>N. oleander</i>	39
Figure 13 : Disposition des boîtes de pétri contenant les pucerons d'agrumes (<i>A. spiraecola</i>).....	40
Figure 14 : L'évolution du taux de mortalité d' <i>A. spiraecola</i> sous l'effet de l'extrait de polyphénols de <i>N. oleander</i>	43
Figure 15 : Evolution de la mortalité corrigée de l'extrait polyphénol de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i>	45
Figure 16 : Efficacité de l'extrait polyphénolique de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i>	45
Figure 17 : L'évolution du taux de mortalité d' <i>A. spiraecola</i> sous l'effet de l'extrait de caroténoïdes de <i>N. oleander</i>	46
Figure 18 : Evolution de la mortalité corrigée de l'extrait de caroténoïdes de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i>	47
Figure 19 : Efficacité de l'extrait de caroténoïdes de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i>	48
Figure 20 : Comparaison de l'activité insecticide des deux extraits polyphénols et caroténoïdes de <i>N. oleander</i> sur <i>A. spiraecola</i>	49

Liste de tableaux

Tableau01 : Principales utilisations de *N. oleander* en médecine traditionnelle selon les pays..... 10

Tableau02 : Propriétés pharmacologiques de *Nerium oleander*11

LISTE DES ABREVIATIONS

- DL : Dose Létale
- EX : Extrait
- R : Rendement
- C° : Degré Celsius (température)
- % : Pourcentage
- ml : Millilitre
- T : Témoin (eau distillée)
- OMS : Organisation mondiale de la santé
- L'EPP : Extrait polyphénolique
- L'EC : Extrait caroténoïde
- MC : Mortalité corrigées
- g : Gramme
- mg : Milligramme
- j : Jour
- Cm : Centimètre
- h : Heur

Tables de matières

Remerciement	
Dédicace	
Resumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

CHAPITRE I: Espèce végétale

I.A) Aspect botanique.....	3
I.1 La famille Apocynaceae.....	3
I.2 Genre <i>Nerium</i>	3
I.3 Espèce <i>N. oleander</i>	3
I.3.1 Synonymes :.....	3
I.3.2 Nom botaniques (Nom latin) :.....	4
I.3.3 Nom vernaculaires	4
I.3.4 Nom anglais	4
I.4 Taxonomie :	4
I.5 Description botanique	4
I.6 Conditions de croissance	6
I.7 Distribution géographique	6
I.B) Aspect chimique	7
I.C) Aspects pharmacologiques	9
I.1 Utilisations traditionnelles dans le monde.....	9
I.2 Propriétés pharmacologiques	11
I.3 Effet de laurier rose sur l'homme et les animaux	11
I.4 Toxicité de la plante	12

CHAPITRE II: Espèce animal

II.1 Généralité sur <i>Aphis spiraecola</i>	14
II.1/1 introduction.....	14
II.1.2 Le nom du ravageur	14
II.1.3 Synonymes.....	14
II.1.4 Nom commun.....	14
II.2 Morphologie et anatomie.....	14

II.3 Classification systématique	15
II.4 La description	16
II.5 Distribution	16
II.6 Cycle évolutif	16
II.7 Les plantes hôtes.....	17
II.8 Les Dégâts causés par <i>A. spiraecola</i> sur les végétaux	18
II.8.1 Dégâts directs.....	18
II.8.2 Dégâts indirects.....	18
II.8.2.1 Transmission de virus.....	18
II.8.2.2 Rejet de miellat et apparition de fumagine.....	18

CHAPITRE III: Métabolites secondaires

III.1. Les métabolites secondaires.....	21
III.2 Les biopesticides d'origine végétale aujourd'hui.....	21
III.3 Les premiers pesticides naturels	21
III.3.1 Les substances actives.....	22
III.3.1.1 Les huiles essentielles.....	22
III.3.1.1.1 Définition des huiles essentielles.....	22
III.3.1.1.2 Composition chimique des huiles essentielles	22
III.3.1.1.2.1 Les terpénoïdes	22
III.3.1.1.2.2 Les composés aromatiques	22
III.3.1.1.2.3 Composés d'origine diverses	23
III.3.1.1.3 Procédés d'obtention des HE	23
III.3.1.1.4 Activité insecticide des HE et leur mode d'action	23
III.3.1.2 Les composés phénoliques	23
a. Les phénols simples	23
b. Les acides phénoliques	23
III.3.1.2.1 Biosynthèse des composés phénoliques	24
III.3.1.2.2 Propriétés biologiques des poly phénols	24
III.3.1.2.3 les méthodes d'extraction de poly phénol	25
A. Infusion	25
B. Décoction	25
C. Macération	25
III.3.1.2.4 Facteurs influençant la teneur des plantes en composés phénoliques	26

III.3.1.2.5 Effet des polyphénols sur les insectes	26
III.3.1.3 les caroténoïdes	27
III.3.1.3.1 Définition	27
III.3.1.3.2 Origine, organismes producteurs et principaux caroténoïdes	27
III.3.1.3.3 Caractéristiques structurales	27
III.3.1.3.4 Caractérisation des caroténoïdes.....	28
A. Spectroscopie	28
B. Chromatographie	28
III.4 Les biopesticides et la stratégie de lutte intégrée	29

CHAPITRE IV: Matériel et méthodes

IV.1 Objectif	31
IV.2. Matériels biologique	31
a. Matériel végétal	31
b. Matériel animal	31
IV.3. Méthode d'extraction	32
IV.3.1. Matériel utilisé pour la préparation des extraits végétaux	32
IV.3.2. Préparation des extraits	32
a. Extraction des polyphénols	32
b. Extraction des caroténoïdes	34
IV.4 Le rendement d'extraction	36
IV.5 Conservation de l'extrait	36
IV.6. L'activité insecticide	36
IV.6.1 Préparation des dilutions	36
IV.6.2. Test de toxicité	38
IV.6.3. Test de contact.....	38
IV.7. Paramètres étudiés	40
VI.8. Taux de mortalité	40
VI.9. Détermination de la DL50 et DL90	41
VI.10. Analyse statistique	41

CHAPITRE V Résultats et discussions

V.1. Rendement de l'extraction	43
V.2.1. Traitement par l'extrait poly phénolique de <i>N. oleander</i>	43

V.2.1.1. Les doses létales 50 et 90.....	45
V.2.2 Traitement par l'extrait caroténoïde de <i>N. oleander</i>	46
V.2.2.1. Les doses létales 50 et 90	47
V.3. La comparaison entre l'activité insecticide des deux extraits « polyphénol et caroténoïde » sur le puceron	48
V.4. Les analyses statistiques	49
V.5 Discussion	50
Conclusion	51
Références	
Annexes	

Introduction

Générale

La sécurité alimentaire et l'augmentation de leur revenu sont les principaux objectifs de la plupart des agriculteurs. La combinaison de certaines pratiques agricoles comme la rotation des cultures, la protection physique (filets anti-insectes), l'utilisation des plantes pesticides (toute plante dont les propriétés chimiques peut être exploitée pour lutter contre les organismes considérés comme nuisibles) sont susceptibles de réduire significativement la pression des bioagresseurs et le besoin en pesticides de synthèse (Amoatey et Acquah, 2010).

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).

Les recherches récentes ont montré que les extraits végétaux présentent plusieurs propriétés leur permettant de s'inscrire dans les stratégies alternatives visant à limiter l'emploi des pesticides organiques de synthèse dans l'agriculture. Les biopesticides sont considérés comme des produits à faible répercussion écologique et ils sont entièrement biodégradables (Glitho, 2008).

En Algérie, la lutte avec des bio-molécules commence à être étudiée mais il est légitime de se demander si elle est applicable dans les conditions particulières de la province, soit environnementales, sociales ou économiques.

Les méthodes d'exploration et d'exploitation des matières végétales ont connu des progrès spectaculaires quant à l'extraction et la purification de leurs principes actifs, ainsi le passage de leur emploi sous leur forme brute à des extraits concentrés et purifiés ont permis d'en intensifier l'effet.

C'est dans un cadre de contribution à la valorisation de notre patrimoine végétal que nous avons jugé nécessaire d'identifier les principales classes des composés secondaires de *Nerium oleander* L. La présente étude a pour objectif principal la valorisation de cette plante (*N. oleander*) provenant de la région de Mostaganem, par une étude de l'effet insecticide des polyphénols et caroténoïdes du *N. oleander* sur le puceron *A. spiraecola*.

Cette étude comporte deux parties essentielles. Une partie relative à l'étude bibliographique et une autre partie réservée à l'étude expérimentale, par conséquent dans la partie bibliographique, nous avons présenté un bilan bibliographique des connaissances biologiques des Apocynaceae, en particulier l'espèce *N. oleander* L. et l'espèce animale notamment le puceron vert des agrumes. Ensuite, la partie expérimentale a concerné les

réponses de population d'*A. spiraecola* à l'impact des polyphénols et caroténoïdes d'une espèce de laurier (*N. oleander*) sur l'aspect toxicologique des larves du puceron vert des agrumes quatrième stade.

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

CHAPITRE I

Espèce végétale

I. A) Aspect botanique :

I.1 La famille Apocynaceae :

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

La famille comporte plus de 180 genres et 1300 espèces, se développant principalement dans la zone intertropicale (Bruneton, 2001; Shriff *et al.*, 2006) répartis en 4 sous-familles (Gaussen *et al.*, 1982).

I.2 Genre *Nerium*:

Le genre *Nerium* regroupe dans le monde deux espèces (Popenoe, 1975 ; Yamauchi *et al.*, 1983):

- *Nerium oleander* L.
- *Nerium indicum* Mill.

Originnaire de l'Asie du sud-est, l'espèce *Nerium indicum* Mill. (Syn: *Nerium odorum* Sol.), est une espèce d'Iran, de l'Inde, répandue de l'Arabie au Pakistan et à la Chine (Paris *et al.*, 1971). Elle est aussi signalée au Japon. Introduite en Europe au XVIIe siècle, on la cultive souvent sur la côte atlantique, au sud de la Loire. Ses pétales ont un appendice divisé presque jusqu'à la base en franges filiformes (Bruneto, 2001).

I.3 Espèce *Nerium oleander* :

Le *N. oleander* ou laurier-rose (appelée localement Défla) est un arbuste appartenant à la famille des Apocynaceae. Le nom latin *Nerium* vient du grec nerion signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (Paris *et al.*, 1971). Le nom spécifique *oleander* vient de l'italien de « oleandro » qui vient du latin « *Olea* » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages.

I.3.1 Synonymes :

Laurose, nerion, Rosage, Oléandre, Rhododaphné, Rhododendron de pline, laurelle, Nérier, Nérier à feuilles de laurier L., canne de saint-Joseph, Belladona (Mahmoudi, 2013).

I.3.2 Nom botanique (Nom latin) :

Le laurier rose est connu sous le nom botanique suivant :

Nerium oleander L., *Nerium rhododendrum* Dod., *Nerium grandiflorum* Desf (Mahmoudi, 2013).

I.3.3 Nom vernaculaire :

Le laurier rose est connu sous les noms vernaculaires suivants :

Defla, Elel, Alili, Talilit, Anidj, Anin, Ariri, Alidji, nommé aussi au Maroc « Asa Musa » (Lelong, 2008 ; Delille, 2007 ; Lorgue *et al.*, 1987 ; Bonnier, 2001)

3.4 Nom anglais :

Rose-bay common pink oleander (Bealev et Poppenga, 1999).

I.4 Taxonomie :

Selon la flore de l'Europe, le *Nerium oleander* est classé comme suit:

Règne: Plantae

Division : Angiospermae

Classe : Dicotyledoneae

Ordre : Gentianales

Famille : Apocynaceae

Genre : *Nerium*

Espèce : *Nerium oleander* L.

I.5 Description botanique :

C'est un arbuste très glabre à tiges érigées. Il est de 2 à 5 m de hauteur, au feuillage persistant, allongé et coriace, aux fleurs qui s'épanouissent en bouquets à l'extrémité des branches, légèrement parfumées, elles fleurissent du printemps à la fin de l'été (Lelong, 2008).

Feuilles persistante, pointues, s'amincissant en pétiole, enroulées au bord ; grosse nervure centrale et nombreuses nervures latérales (Lewoncruk, 2004).

De couleur vert foncé, calice à 5 lobes, 2 à 3 fois plus court que le tube de la corolle. Ses pétales roses mais parfois blancs ou rouges, sont munis à la gorge d'écailles frangées. Fleurs grandes 3,5 cm elles sont exceptionnellement blanches sont régulières et disposées en corymbes terminaux (Lewoncruk, 2004 ; Delile, 2007).

Les fruits capsulaires sont des follicules allongés, striés, renfermant des graines de petite taille, poilues à aigrette sessile (Fig. 03) (Lelong, 2008 ; Lewwonzak, 2004 ; Delille, 2007).



**Figure 01 : Les stades phénologiques du laurier rose
(Originale, 2018)**

I.6 Conditions de croissance :

Sa croissance est rapide. C'est un arbuste peu exigeant qui supporte le calcaire et les terres un peu pauvres, un sol pas trop sec en été et au printemps. Le sol doit être fertile. Le laurier rose a grand besoin de soleil. Il est très résistant à la sécheresse mais s'accommode aux climats tropicaux humides, il est sensible au froid (Aubineau *et al.*, 2002 ; Benston, 1984). Les lauriers roses résistent facilement jusqu'à à 8°C, ses longues racines lui permettent de chercher l'eau à grande profondeur dans le lit des rivières à sec (Aubineau *et al.*, 2002 ; Benston, 1984).

I.7 Distribution géographique :

Le *N. oleander* se développe notamment aux pays du pourtour du bassin méditerranéen. Il serait originaire du Proche-Orient (Paris *et al.*, 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 *et al.*, 1971; Bruneton, 2001).

En Afrique du Nord, le *N. oleander* est assez commun dans la zone steppique. En Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocailleux. Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (Chopra *et al.*, 1971).

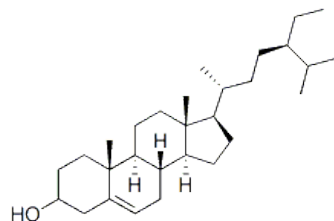
Le *N. oleander* se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...) (Ridings , 1976 ; Siddiqui *et al.*, 1987 ; Siddiqui *et al.*, 1989 ; Begum *et al.*, 1997 ; Begum *et al.*, 1999 ; Banon *et al.*, 2006).

Elle est fréquemment cultivée comme ornamental (Ridings, 1976; Barbosa *et al.*, 2008; Delille, 2007).

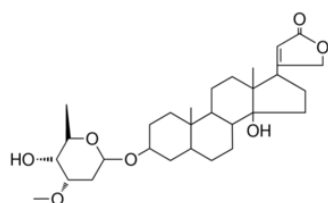
I.B) : Aspect chimique :

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). Une trentaine de cardénolides ont été séparés ou caractérisés, majoritairement représentés par l'oléandrine, les odorosides A-M et l'adigoside (Paris *et al.*, 1971).

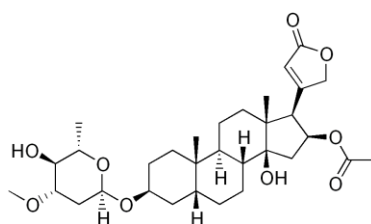
La plante accumule les hétérosides cardénolides dans tous les organes. Les feuilles renferment environ 1,5% de cardénolides, dont 0.1% d'oléandrine ou 3- α -Loléadrosyl-16-acétylgitoxigénine. Ces concentrations varient selon des considérations génétiques et environnementales. L'oléandrine est accompagné d'analogues stéroïdiques tels que : la gitoxigénine, adynérigénine, l'uzarigénine... (Bruneton, 1999). Les graines renferment de l'oléandrine et des composés voisins : odorosides, adigoside, gluco-strospéside, etc. (Bruneton, 2001). Toute la plante est dangereuse, ni l'ébullition ni la dessiccation des feuilles ne permettent d'inactiver les toxines constituées essentiellement d'hétérosides cardénolides. 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).



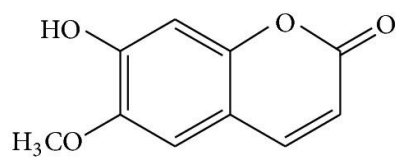
B – sitostérol



odoroside A



oleandrin



quercetine

Figure 02 : Quelques métabolites secondaires de *Nerium oleander*

I.C) Aspects pharmacologiques :

Malgré sa toxicité établie, l'espèce *N. oleander* est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées populaires (Adom *et al.*, 2003).

I. 1 Utilisations traditionnelles dans le monde:

Le *N. oleander* est employé en médecine traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies et fait d'ailleurs partie de plusieurs pharmacopées locales (Adom *et al.*, 2003; Almahy *et al.*, 2006). Les usages traditionnels des différents organes de *N. oleander* selon les pays sont décrits dans le monde : (Tableau 01).

Tableau 1 : Principales utilisations de *N. oleander* en médecine traditionnelle selon les pays

Parties utilisées	Pays	Indications / (références)	Mode d'emploi
feuilles fraîches ou séchées	Afrique du sud		
	Algérie	Abortif (Adom <i>et al.</i> , 2003)	Décoction
	Iran	Nettoyage et assouplissement des pieds (peau), contre les caries dentaires (Maftah <i>et al.</i> , 2003). Cardiotonique et diurétique (Adom <i>et al.</i> , 2003). Infusion	Infusion Décoction, Infusion, Macération
	Maroc	Antidiabétique, abortif, démangeaison, maux de tête (Bnouham <i>et al.</i> , 2002), antigale, contre la chute des cheveux et l'eczéma (Oukal, 2008).	
	Tanzanie et Turquie	Antibactérien (Erdemoglu <i>et al.</i> , 2003; Adom <i>et al.</i> , 2003).	Décoction

I.2 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 (Tableau 2) :

Tableau 2 : Propriétés pharmacologiques de *Nerium oleander*

Parties utilisées	Propriétés pharmacologiques et utilisation / (références)
Feuilles	Cardiotoniques, antibactériens. (Hussain <i>et al.</i> , 2004; Delille, 2007), inhibition du système nerveux central (CNS) chez les souris. (Hanson, 1985; Huq <i>et al.</i> , 1999), anticancéreux (Hanson, 1985; Bor <i>et al.</i> , 1988; Begum <i>et al.</i> , 1999).
Racines	Anticancéreux, antilépreux, anti-ulcèreux, antibactériens, cardiotoniques. (Hanson, 1985; Siddiqui <i>et al.</i> , 1989; Huq <i>et al.</i> , 1999).
Différentes parties	Antimalaria, antivirale, anti-ulcèreux, anticancéreux, antidote (Ibrahim <i>et al.</i> , 2007) et comme insecticide (Adom <i>et al.</i> , 2003). Emménagogue, comme Abortif, antispasmodique et dans le traitement d'angine de poitrine... (Al-yahya <i>et al.</i> , 2000; Aouinty <i>et al.</i> , 2006), antiparasitaires... (Siddiqui <i>et al.</i> , 1987; Siddiqui <i>et al.</i> , 1989; Adom <i>et al.</i> , 2003; Ibrahim <i>et al.</i> , 2007).

I.3 Effet de laurier rose sur l'homme et les animaux :

Le laurier - rose est un arbuste dangereux, toutes ses parties sont toxique pouvant en cas d'ingestion provoquer des accidents graves (Engel, 1984).

Les symptômes apparaissent plusieurs heures après l'ingestion d'une quantité toxique tels que les fissions, les diarrhées, les coliques, une faiblesse générales, les maux de tête, les pouls irrégulière, une grande agitation, les palpitations, des vertiges, des douleurs abdominales, des nausées, et des vomissement, l'inconscience, des selles sanguinolentes, une irritation gastro intestinales avec des troubles respiratoires, ralentissement de la fonction respiratoire et irrégularité cardiaque (Engel,1984). Le suc laiteux contenu dans les tiges peut provoquer chez certaines personnes des dermites de contact, l'intoxication dû au laurier rose peut provoquer la mort des personnes intoxiquées (Delille, 2007 et Engel, 1984).

La consommation des feuilles provoque chez les animaux domestiques des vomissements, diarrhée, stupeur, tremblement, convulsion et paralysie. La dose mortelle pour

les ovins est de 1 à 5g. La plante est très toxique, notamment pour les chameaux. Les chevaux y sont particulièrement sensible (Engel, 1984).

I.4 Toxicité de la plante :

Toute la plante est toxique.

Le laurier rose est la troisième plante citée parmi celles incriminées dans les intoxications équine. Sur les deux cents substances toxiques répertoriées, le laurier rose a représenté 2,4% des appels reçus au Centre National d'Information Toxicologiques Vétérinaires (CNITV) en 2008 ((Rebelle, 2012).

La plante fraîche étant très amère et peu appétente, la contamination a lieu en général lors d'ingestion de foin contaminé, de tailles séchées déposées dans la prairie ou la consommation d'eau dans laquelle des feuilles ont macéré. Toutes les parties de la plante sont toxiques (tiges, feuilles et fleurs) (Rebelle, 2012).

La dose toxique est évaluée à 0.005% du poids vif de l'animal, soit environ 25g pour un animal de 500kg (Rebelle, 2012).

CHAPITRE II

Espèce animale

II .1 Généralité sur *Aphis spiraeicola* :

II .1 .1 Introduction :

Aphis spiraeicola a été décrit pour la première fois par Patch en 1914. Pendant ce temps, *Aphis citricola* a été décrit par (Van Der Groot en 1912), à partir de pucerons collectés au Chili. *A. citricola* a finalement été traité comme un synonyme d'un autre puceron des agrumes, *Toxoptera citricida*; mais (Hille Ris, 1975) a montré que ce n'était pas cette espèce mais *A. spiraeicola*. Par conséquent, *A. spiraeicola* est devenu un synonyme de *A. citricola*.

Eastop et Blackman (1988) ont réexaminé le matériel original à partir duquel *A. citricola* avait été décrit, et en ont trouvé une partie comme étant *Aphis fabae*. Ils ont suggéré que le puceron des ravageurs répandu sur les agrumes et d'autres arbres et arbustes devrait donc revenir au nom qui lui avait été attribué auparavant: *A. spiraeicola*. C'est maintenant le nom accepté. (Eastop et Hille Ris, 1976) ont énuméré des synonymes mais sous le nom de *citricola* van der Groot. *A. spiraeicola* appartient à la tribu Aphidini, appartenant à la sous-famille des Aphidinae et la famille des Aphididae.

II. 1.2 Le nom du ravageur :

Aphis spiraeicola Patch (Hemiptera, Aphididae) - Puceron de Spiraea (aussi puceron vert des agrumes).

II .1. 3 Synonymes:

Nombreux, en raison de la confusion historique sur son identité; le plus commun est *Aphis citricola* (CABI, 2013).

II .1.4 Nom commun:

Puceron de Spirée.

II .2 Morphologie et anatomie :

Ce sont de petits insectes de quelques millimètres seulement (Evelyne, 2011).

D'après Josephine (2012), leur aspect est très varié : la taille, la forme et la couleur de leurs corps ainsi que des différents appendices varient d'une espèce à l'autre mais également

au sein d'une même espèce en réponse à leur environnement biologique et abiotique. De plus, des individus aptères, ailés, sexués ou vivipares sont produits au cours de leur cycle de vie (Fig. 03).

La taille des Aphides varie, chez les adultes, entre 0.5 et 8 mm et plus souvent entre 2 et 4 mm. Nous considérerons comme petites espèces celles dont la taille des individus adultes n'excède pas 1.5 mm, comme grosses celles composées d'individus d'une longueur supérieure à 3 mm. De 1.5 à 3 mm nous aurons les espèces de taille moyenne (Leglant, 1999).

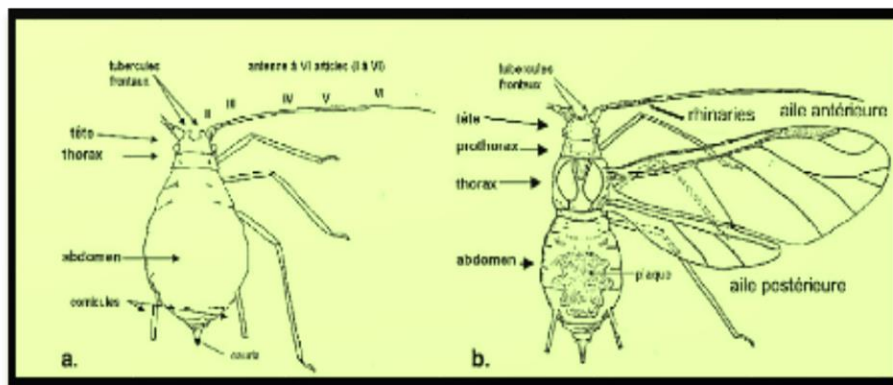


Figure 03. Schéma de l'anatomie générale d'un puceron.
 a. Femelle vivipare aptère.
 b. Femelle vivipare ailée (modifié d'après Encyclop'Aphid
 (c) INRA, 2013).

II. 3 Classification systématique : (Jourdan et Mille, 2006) :

- Règne :** Animalia
- Embranchement :** Arthropoda
- Sous embranchement :** Hexapoda
- Classe :** Insecta
- Ordre :** Hemiptera
- Famille :** Aphidinae
- Sous famille :** Aphidinae
- Genre :** *Aphis*
- Espèces :** *Aphis spiraecola* (Patch, 1914)

II.4 La description :

A. spiraecola est un puceron relativement petit, avec les plus grandes tailles au printemps. Sa couleur de corps est jaune-vert vif ou vert-jaunâtre à vert pomme. Il a une tête brune, principalement des pattes et des antennes pâles, mais des siphuncules et des cauda brun foncé à noirs. Les ailés ont une tête et un thorax brun foncé et un abdomen vert jaunâtre avec des tâches latérales sombres sur chaque segment (Blackman et Eastop, 2000).

II.5 Distribution :

A. spiraecola a probablement son origine en Extrême-Orient. L'ont répertorié comme étant présent en Amérique du Nord au moins depuis 1907; des introductions ont eu lieu dans la région méditerranéenne vers 1939, en 1961 en Afrique, en Australie en 1926 et en Nouvelle-Zélande en 1931. L'espèce a maintenant une répartition mondiale dans les régions tempérées et tropicales (Blackman et Eastop, 2000).

II.6 Cycle évolutif :

La plupart des espèces de pucerons présentent, au cours de leur cycle évolutif, une génération d'insectes sexués (mâle et femelle) alternant avec une ou plusieurs générations se multipliant par parthénogenèse et constituées uniquement de femelles (parthénogenèse thélytoque). Les femelles fécondées sont toujours ovipares alors que les femelles parthénogénétiques sont le plus souvent vivipares.

Au cours de l'année qui, le plus souvent, recouvre un cycle évolutif complet, plusieurs générations polymorphes apparaissent (Leclant, 2000).

Chez certaines espèces, la phase de multiplication parthénogénétique est entrecoupée d'une phase de reproduction sexuée. On parle alors d'holocyclie (Hullé, 1999). Quelques espèces de pucerons ont perdu la phase de reproduction sexuée dans leur cycle, on les appelle anholocycliques, les générations asexuées s'enchainent tout au long de l'année sur le même type de plante hôte (Josephyne, 2012).

D'après Rabatel (2011), les pucerons peuvent être divisés en deux groupes en fonction de leur cycle de vie au sein de l'holocyclie :

- Les espèces dites monoeciques qui se nourrissent sur les mêmes espèces de plantes vivaces ou herbacées tout au long de l'année ;

- Les espèces dites dioeciques ou hétéroeciques 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. 04).

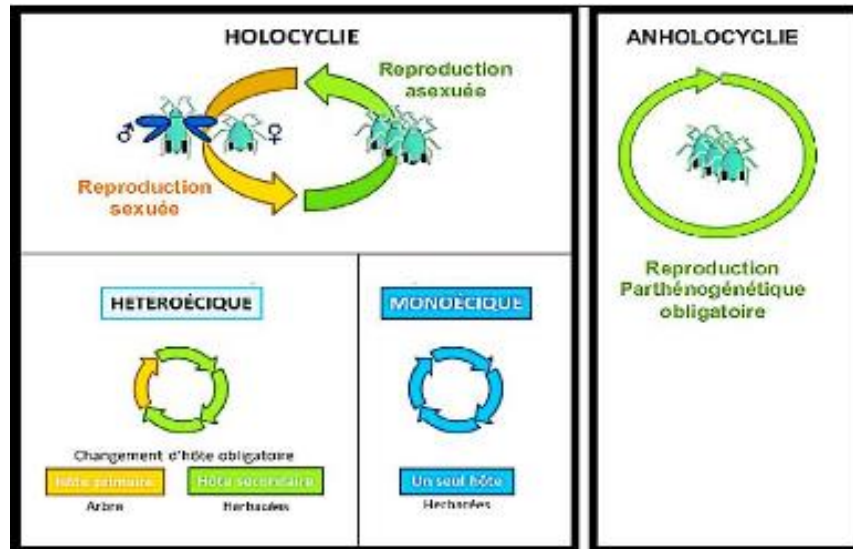


Figure 04 : Diversité des cycles de vie chez les pucerons (Josephine, 2012)

II. 7 Les plantes hôtes :

Toutes les plantes hôtes déterminées sont des arbustes et des arbres appartenant aux familles Rutaceae, Rosaceae, Caprifoliaceae et Rhamnaceae. Selon (Kranz *et al.*, 1977) et (Blackman et Eastop, 1984) *A. spiraecola* se trouve sur plus de 65 genres végétaux, y compris sur le plan économique.

Cultures importantes comme les agrumes, le cacao, la papaye *anona*, *Malus* sp., *Pirus* sp., *Prunus* sp. etc. Sauf *Lavandula* sp. et *Paliurus spina-christi*, toutes les plantes hôtes sont à feuilles persistantes et *A. spiraecola* est présent sur ces deux plantes hôtes au cours de la floraison et de la plante (Blackman et Eastop, 2000).

Les ingrédients, en particulier le temps de floraison, font des plantes un hôte approprié (Dixon, 1985).

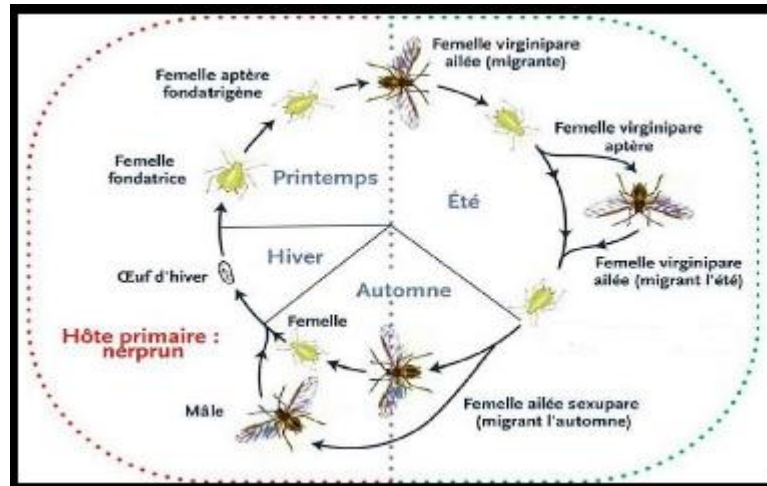


Figure 05 : Cycle biologique du Puceron du soja (Alain, 2006)

II. 8 Les Dégâts causés par *A. Spiraecola* sur les végétaux :

II. 8. 1 Dégâts directs

Le puceron est un des ravageurs majeurs des cultures. Ils posent de nombreux problèmes sur les cultures par les dégâts causés, la perforation des tissus végétaux blesse la plante, en réaction à cette agression on observe souvent une modification des tissus végétaux comme l'enroulement des feuilles colonisées qui réduit la surface photosynthétique et finalement induit une baisse de rendement. L'exploitation de la sève et l'injection de salive toxique affaiblissent la plante (Josephine, 2012).

II. 8. 2 Dégâts indirects

II. 8. 2 .1 Transmission de virus

Les pucerons sont également vecteurs de virus de plantes. L'injection de salive est également à l'origine de la transmission de maladies virales ou parasitaires. Les pucerons constituent ainsi le plus important groupe d'insectes vecteurs de virus phytopathogènes, en transmettant au moins 275 virus (Nault, 2011).

II. 8. 2. 2 Rejet de miellat et apparition de fumagine

Selon (Hullé *et al.*, 1998), le puceron rejette un miellat sur lequel se développent des champignons agents de fumagines qui entravent la respiration de la plante et son assimilation chlorophyllienne.

D'importantes pertes de rendement et une altération de la qualité des produits végétaux comme les fruits sont les conséquences économiques de ces infestations (Rabatel, 2011).

CHAPITRE III

Métabolites secondaires

III .1.Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre. La concentration de ces molécules dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂ (Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

Les métabolites secondaire peuvent être classé en polyphénols, alcaloïdes, isoprénoides, les composés secondaires des plantes sont souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante productrice contre divers organismes comme les pathogènes et les ravageurs. Ces composés sont très nombreux et variés, et certains sont largement distribués, comme les alcaloïdes, les tanins et les terpènes. Dans l'optique de rechercher des alternatives aux méthodes de lutte chimique, on a évalué en condition de laboratoire l'effet des extraits des feuilles du laurier rose (*Nerium oleander*) sur *Aphis spiraecola*. Beaucoup de constituants toxiques ont déjà été isolés du laurier rose avec un domaine d'activité très large (insecticide, antimittotique, propriétés cardiotoniques).

III .2 Les biopesticides d'origine végétale aujourd'hui :

Un biopesticide se définit étymologiquement comme un pesticide d'origine biologique, c'est-à-dire issu d'organismes vivants ou de substances d'origine naturelle synthétisées par ces derniers. Comme le notent (Regnault, 2005), « le biopesticide est préconisé pour un meilleur respect des biocoenoses et de l'environnement ».

III .3 Les premiers pesticides naturels :

L'évolution a doté les organismes biologiques de médiateurs chimiques impliqués dans les communications entre espèces et présentant une grande variété d'effets (Walling, 2000). Parmi ces composés, ont été identifiées de nombreuses molécules qui présentent une action défensive du végétale contre les ravageurs. Ainsi, plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (Grainge et Ahmed, 1988). C'est donc à partir d'observations empiriques, constatant que certaines plantes se protégeaient mieux que

d'autres contre des prédateurs qui importunaient aussi les hommes, que se sont développés les premiers usages phytosanitaires des végétaux.

III .3 .1 Les substances actives :

III. 3 .1 .1 Les huiles essentielles :

III.3 .1.1.1 Définition des huiles essentielles :

La norme AFNOR NF T 75-006, définit une huile essentielle comme étant un produit odorat généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (Bruneton, 2009). La pharmacopée européenne, précise que la matière première peut être fraîche, flétri, sèche, entière ou pulvérisée.

III.3.1.1.2 Composition chimique des huiles essentielles :

Ces huiles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes distincts caractérisés par des origines biogénétiques distinctes (Bruneton, 2009).

III.3.1.1.2.1 Les terpénoïdes :

Ce sont des hydrocarbures de nature terpéniques dont la formule est $(C_5 H_8)$. Ces terpènes sont très volatils et regroupent : les mono-terpènes $(C_{10} H_{16})$ et les sesquiterpènes $(C_{15} H_{24})$. Les monoterpènes sont les plus répandus et ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, borneol), phénols, esters; aldéhydes et autres. Les sesquiterpènes sont les moins répandus et ils sont mono- ou polycycliques (β -caryophyllène) (Bruneton, 2009).

III.3.1.1.2.2 Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane ($C_6 - C_3$) sont moins fréquents que les précédents. Ce sont parfois des aldéhydes ou des prophenyphenols.

III.3.1.1.2.3 Composés d'origine diverses :

Il s'agit de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (alcools, esters et des produits azotés ou soufrés).

III.3.1.1.3 Procédés d'obtention des HE :

Extraction des huiles essentielles se fait par hydrodistillation à la vapeur d'eau (Kothe, 2007). L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide de l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

III.3.1.1.4 Activité insecticide des HE et leur mode d'action :

Certaines huiles essentielles ont une action neurotoxique. Compte tenu de la grande diversité des monoterpènes contenus dans les huiles essentielles, plusieurs études confirment que leur activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques qui affectent des cibles multiples et perturbent ainsi plus efficacement l'activité cellulaire (Huignard, 2008).

L'action des monoterpènes oxygénés comme l'eugénol, aurait un effet toxique sur le récepteurs de l'octopamine qui est un neuro-hormone chez les invertébrés (Enan, 2005) et ils développent à degrés divers, une toxicité aiguë sur l'adulte et ainsi que, des activités ovicides et larvicides précoces ou tardives (Regnault et Hamraoui, 1995).

Les travaux de Mills (2004), montrent que le terpène-4-ol et le 1,8 -cineole (extraient de feuilles du thé), provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase.

L'effet létal et l'inhibition de la reproduction, ne se superposent pas forcément, ainsi, la muscade possède une faible toxicité inhalatrice sur adulte mais elle a un effet antinutritionnel élevé (Ngamo et Hance, 2007). D'autres travaux (Ducrot, 2002), montrent que les composés terpéniques manifestent une activité antiappétante pour les insectes. (Enan, 2001), a fait le lien entre l'application de l'eugénol de l' α -terpinéol et de l'alcool cinnamique et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Il conclut que l'effet peut varier d'un terpène à un autre.

En effet, la nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont induits de cette couche cireuse et sont affectées par l'huile essentielle ce qui peut entraîner l'asphyxie (Chiasson et Beloin, 2007).

Ces travaux montrent que les phytopesticides valorisables sous la forme des huiles essentielles présentent un réel avantage du fait de leur faible rémanence, leur faible toxicité pour l'homme et de leur mode d'action sur les ravageurs (Keita *et al.*, 2001 ; Ngamo et Hance, 2007).

III .3.1.2 Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante,

Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille; ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyl. Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols. Par abus, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignanes les lignines et les xanthones (Stalikas, 2007).

III .3.1.2.1 Les phénols simples :

Ceux sont les composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le(s) noyau(x) benzénique(s) comme le 3-hydroxytyrosol, le tyrosol, le 4-vinylphéno.

III .3.1.2.2 Les acides phénoliques :

Ce sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamiqu (Stalikas, 2007).

III .3.1.2.1 Biosynthèse des composés phénoliques :

Les composés phénoliques des végétaux sont bio synthétisés par trois voies différentes (Middleton *et al.*, 2000) : voie Shikimique, voie Acétate-Malonate ou voie des polycétides et voie acétate Mevalonate.

III .3.1.2.2 Propriétés biologiques des polyphénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000 ;). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (Middleton *et al.*, 2000).

III.3. 1. 2.3 Les méthodes d'extraction de polyphénol :

Les composés phénoliques (principalement flavonoïdes, acides phénoliques et tannins) constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Nkhili, 2009). L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification (Mahmoudi., 2013).

A. Infusion :

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (Sofowora, 2010).

B. Décoction :

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition en un temps plus ou moins long deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (Pierre et Lis, 2007).

C. Macération :

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (Pierre et Lis, 2007). Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine d'heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (Pierre et Lis, 2007). Pour l'alcool, le vinaigre, l'huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients (Pierre et Lis, 2007).

Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche (Konkon *et al.*, 2006) afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion).

III.3.1.3.4 Facteurs influençant la teneur des plantes en composés phénoliques :

Différents facteurs physiques, chimiques et biologiques externes ou endogènes, jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolique phénolique. En fonction du stade physiologique, les organes jeunes sont plus riches en composés phénoliques que les organes âgés et à l'échelle tissulaire, les composés des feuilles se caractérisent avec une forte teneur des anthocyanes et des flavonols dans les épidermes. Les variations des teneurs en composés phénoliques sont considérables d'une espèce à une autre, à l'intérieur même d'une espèce et peuvent être influencés par les facteurs externes comme la lumière et la température (Pierre et Lis, 2007).

III.3.1.2.5 Effet des polyphénols sur les insectes :

De nombreux composés phénoliques, acides phénols et flavonoïdes, provoquent une perturbation de la matrice naturelle de l'insecte. Celle-ci est altérée dès le premier jour pour la quercétine ou de manière plus tardive, le quatrième jour pour la naringine, le syringaldéhyde ou l'acide vanillique. Dans certains cas, notamment pour la lutéoline-7-glucoside, un effet Knock-down se produit et au bout de 8 jours, les insectes sont dans un état comateux ou mort. La toxicité des polyphénols est corrélée positivement avec le pouvoir attractif des composés (Regnault *et al.*, 2004).

Contrairement aux monoterpènes, les polyphénols exercent une action insecticides d'une intensité moindre, mais qui dure longtemps que les huiles essentielles (Regnault *et al.*, 2008).

III .3.1 .3 Les caroténoïdes :

III .3.1.3 .1 Définition :

Les caroténoïdes sont des pigments absorbant la lumière entre 380 et 750 nm. Ils regroupent les carotènes (caroténoïdes hydrocarbonés) et les xanthophylles (caroténoïdes porteurs de fonctions alcool, cétone, époxy...). Les caroténoïdes sont des métabolites secondaires principalement synthétisés par les végétaux et, dans une moindre mesure, par des levures, champignons, algues marines, micro algues ou certaines espèces bactériennes. Ils sont absorbés par les animaux dans leur nourriture et sont en général assimilables par les organismes : ils suivent des voies métaboliques étroitement liées à celles des lipides. Plus de 600 caroténoïdes naturels, ayant des structures très variées, ont été décrits à ce jour (Britton, *et al.*, 2008), et 40 environ sont présents dans l'alimentation humaine.

III .3.1.3.2 Origine, organismes producteurs et principaux caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont produits en grande quantité chez les organismes photosynthétiques (procaryotes et eucaryotes). Ils sont aussi présents, mais à des teneurs beaucoup plus faibles, chez les organismes non photosynthétiques.

Chez les végétaux, il a été largement démontré que les caroténoïdes sont responsables des couleurs rouge, orangée ou jaune de nombreuses plantes, repérables au niveau des fruits (ex : la tomate), fleurs (ex : les soucis) ou racines (ex : la carotte). Ils sont également présents dans les tissus verts, mais leur couleur est masquée par celle de la chlorophylle. Il faut attendre la disparition de celle-ci, à l'automne, pour voir les caroténoïdes. Ils sont synthétisés et localisés dans les chromoplastes (organites dérivés des chloroplastes lors du mûrissement des fruits, par exemple), au niveau de diverses structures : des gouttelettes lipidiques sphériques, les plastoglobules (où les caroténoïdes à de fortes concentrations cristallisent) et des chromoplastes tubulaires (dans lesquels se trouvent des superstructures de caroténoïdes, dont des esters de xanthophylles) (Fraser *et al.*, 2000).

III .3.1.3.3 Caractéristiques structurales :

Les caroténoïdes sont des molécules apolaires hydrophobes, appartenant à la famille des terpènes. Les terpènes représentent une grande classe de composés à fonctions très variées. L'appartenance à cette catégorie est établie sur des critères de structure et de biosynthèse (Townsend *et al.*, 2004). L'unité de base de ces structures est l'isoprène composé de cinq atomes de carbone (C₅). La plupart des caroténoïdes sont des tétraterpènes, issus de la

condensation de huit unités en C5 et ont donc une structure hydrocarbonée composée de 40 atomes de carbone (structure en C40) (Stahl et Sies, 2003). Toutefois il existe aussi des structures en C30 ou C50 (Perez et Minguez, 2001).

Les caroténoïdes sont des molécules avec une structure tridimensionnelle précise, qui est déterminante pour leurs propriétés physico-chimiques et nutritionnelles (Britton *et al.*, 2008).

III.3.1.3.4 Caractérisation des caroténoïdes :

A. Spectroscopie :

Le premier critère pour la détermination des caroténoïdes est leur spectre UV/visible, qui possède souvent trois bandes entre 400 et 500 nm (certains, comme l'astaxanthine, n'en possèdent qu'une). Le degré de conjugaison du chromophore détermine les propriétés d'absorption du caroténoïde). Un composé doit comporter au moins sept doubles liaisons conjuguées (cas du carotène) pour absorber la lumière visible. Au-delà de sept, plus le nombre de doubles liaisons conjuguées est important plus la longueur d'onde d'absorption maximale du caroténoïde (λ_{max}) est grande et plus sa couleur tend vers le rouge foncé). Les mesures d'absorbance à λ_{max} permettent en outre l'analyse quantitative des caroténoïdes dont le coefficient d'absorption molaire ϵ est connu (Middleton *et al.*, 2000).

B. Chromatographie :

L'identification et la séparation de caroténoïdes ou de différents isomères sont couramment conduites par analyse HPLC en phase inverse ou phase nitrile. La distinction entre les divers carotènes et xanthophylles se fait le plus souvent sur des colonnes de silice greffée en C18. Toutefois, les colonnes en C30 sont particulièrement efficaces pour la séparation des isomères cis/trans (Liaaen et Lutnoes, 2008).

La combinaison à la spectrométrie de masse est un outil efficace pour confirmer l'identification d'un composé caroténoïde (Careri *et al.*, 1999). L'ionisation par impact électronique induit la détection d'ions caractéristiques d'isomères cis en M-92 et M-106 (expulsion de toluène ou xylène à partir de la chaîne polyène). En revanche, cette technique ne donne pas d'information supplémentaire permettant de localiser les doubles liaisons cis des isomères.

L'identification par spectroscopie de résonance Raman (El-Abassy, *et al.*, 2010) et par spectroscopie proche infra-rouge (NIRS) est très prometteuse et ne nécessite pas de solvants. Mais ces techniques restent peu employées (Sun *et al.*, 2010).

III.4 Les biopesticides et la stratégie de lutte intégrée :

La lutte intégrée est une stratégie de gestion à long terme des bio-agresseurs qui minimise les risques pour les populations, l'écosystème et l'environnement. Dans ce concept, des actions sont menées pour empêcher les bio-agresseurs de devenir un problème. Pour cela, les champs sont minutieusement observés afin d'identifier les maladies et leur cause, dénombrer les bio-agresseurs et établir leur cycle de vie. Les facteurs environnementaux qui leur sont défavorables sont également étudiés. En fonction du seuil de rentabilité fixé par les agriculteurs, les bio-agresseurs répertoriés peuvent être soit tolérés, soit traités. Dans le cas où le contrôle est nécessaire, les données recueillies lors de la surveillance des champs sont exploitées pour l'application des traitements.

La lutte intégrée combine plusieurs pratiques comme l'utilisation de variétés de plantes résistantes aux maladies et aux ravageurs identifiés, une irrigation des cultures appropriée, la rotation ou l'inter-culture, le désherbage manuel ou encore l'utilisation de barrières physiques de prévention contre les ravageurs. Les pesticides chimiques ne sont employés que lorsqu'ils sont nécessaires. Ils sont choisis dans le but de limiter au maximum leur impact sur l'environnement. La lutte intégrée privilégie l'application de biopesticides. En effet, les nombreux avantages des biopesticides, comme leur toxicité réduite vis-à-vis des pollinisateurs, ne peuvent pas être ignorés dans un contexte sociopolitique de plus en plus soucieux de l'écologie. C'est ainsi que l'agri-industrie s'intéresse d'une part aux stratégies de lutte intégrée en proposant par exemple des articles pour la surveillance des bio-agresseurs et, d'autre part, aux biopesticides en rachetant des petites et moyennes entreprises les développant. L'emploi de certains biopesticides en rotation ou en combinaison avec d'autres biopesticides ou avec des produits chimiques permet de diminuer les quantités d'intrants chimiques, ainsi que l'apparition de nouvelles souches résistantes aux nuisibles (Xu *et al.*, 2011).

IV.1 Objectif :

Le but de cette étude comparative est de démontrer «*In vitro*» l'effet insecticide de deux extraits « polyphénols et caroténoïdes » de laurier rose sur le puceron d'agrumes *Aphis spiraecola*.

La première partie est destinée à la préparation de l'extrait par macération avec des solvants, après la séparation du solvant par un rotavapeur, ensuite vient une phase de préparation des dilutions de l'extrait, et en dernier lieu nous avons étudié l'activité insecticide des extraits vis-à-vis du puceron *A. spiraecola*.

Ce stage a été réalisé au niveau du laboratoire de protection des végétaux de l'université de Mostaganem sis au site II (Ex. INES).

IV .2 Matériel biologique :

a. Matériel végétal :

La récolte du matériel végétal a été réalisée au mois de décembre sur la route de salamandre.

La partie aérienne feuilles et fleurs récoltées ont été broyées par un mixeur, puis entreposés dans un endroit ventilé, dans des sacs en plastique jusqu'à leur analyse (Fig. 06).



Figure 06 : Laurier rose (Originale, 2018)

b. Matériel animal :

Les pucerons *A. spiraecola* ont été récoltés sur des arbres d'agrumes (citronnier) dans la ferme expérimentale située entre la commune de Mostaganem au nord, Mazagran à l'ouest, Hassi Mameche au sud et douar Djdid à l'est (Fig. 07).

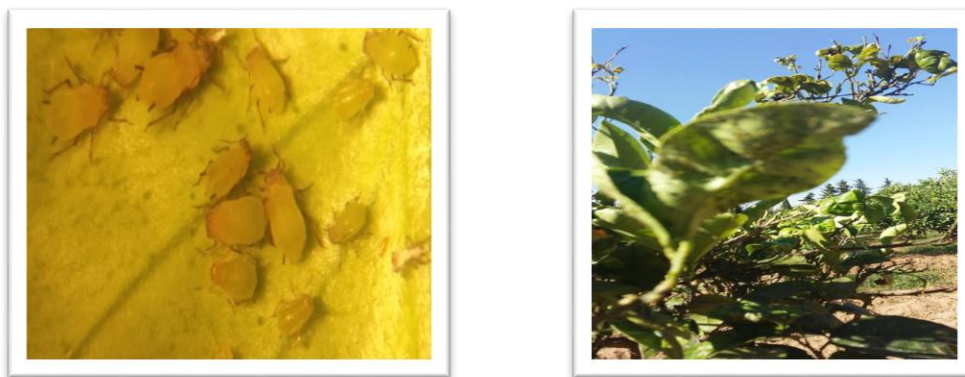


Figure 07 : *Aphis spiraecola* (Originale, 2018)

IV.3 Méthode d'extraction :

IV.3.1 Matériel utilisé pour la préparation des extraits végétaux :

La méthode d'extraction nécessite le matériel suivant :

- Une quantité suffisante de feuilles et de fleurs de laurier rose récolté à l'état frais ;
- Un mixeur pour le broyage des feuilles et des fleurs ;
- Une balance de précision pour peser la poudre foliaire et le poids ;
- Papier filtre pour la filtration du produit ;
- Un rotavapeur pour l'évaporation totale du solvant ;
- Des fioles et des entonnoirs.

IV.3.2 Préparation des extraits :

a. Extraction des polyphénols :

Les matières végétales récoltées de *N. oleander* ont été pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique à couteau afin d'obtenir une poudre. 100g de celle-ci ont été prélevés et mis à macérer dans 150ml de mélange HCl : méthanol (10:90) puis agités pendant 30 minutes. Après filtration de l'extrait foliaire à l'aide d'une fiole et d'un entonnoir, ce dernier a été conservé dans un flacon à l'abri de la lumière.

L'échantillon a été récupéré pour la deuxième extraction avec 150ml du solvant HCl : éthyle-acétate (10:90) et agité pendant 30 minutes à une température ambiante. Le filtrat a été récupéré après filtration du mélange.

Les deux filtrats mélangés, ont été soumis à une évaporation à sec à l'aide d'un rotavapeur afin d'extraire des polyphénols (Fig. 08) .

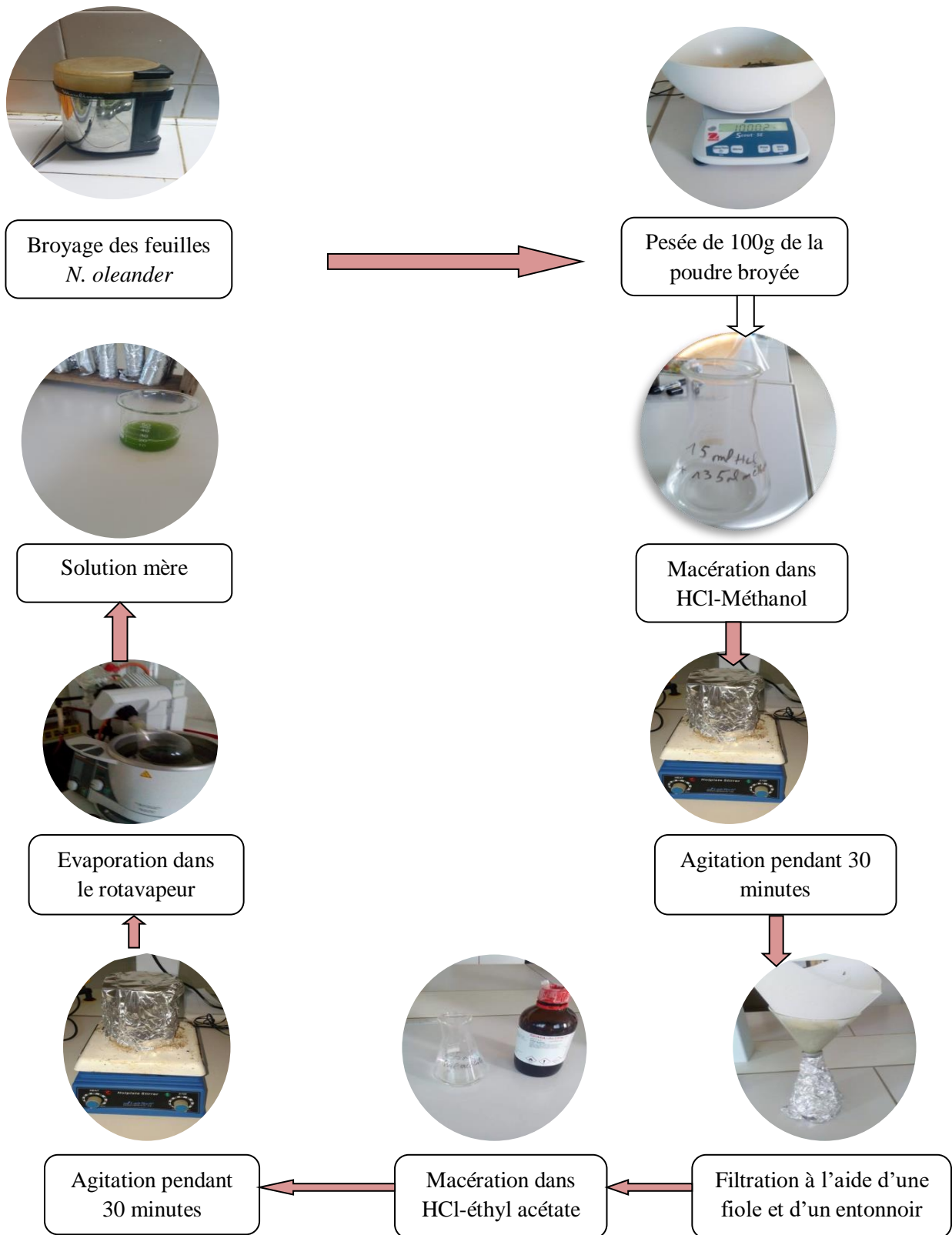


Figure 08 : Préparation de l'extrait polyphénol par la méthode (Mokhtar *et al.*, 2014) (Originale, 2018)

b. Extraction des caroténoïdes :

Les feuilles et les fleurs de *N. oleander* ont été broyées avec un mixeur pour l'obtention d'une poudre, à partir de laquelle, 300g ont été prélevés et mis à macérer dans un mélange de 300ml d'éther de pétrole, éthyle-acétate, méthanol. Le mélange a été agité pendant 30 minutes à température ambiante. Après filtration à l'aide d'une fiole et d'un entonnoir, le filtrat recueilli doit être conservé dans un flacon à l'abri de la lumière.

L'échantillon a été récupéré et l'expérience est répétée quatre fois. Le mélange de filtration est par la suite centrifugé à 1500 t /m pendant 15 minutes. Le surnageant obtenu a été soumis à une évaporation à l'aide d'un rota vapeur (Fig. 09).

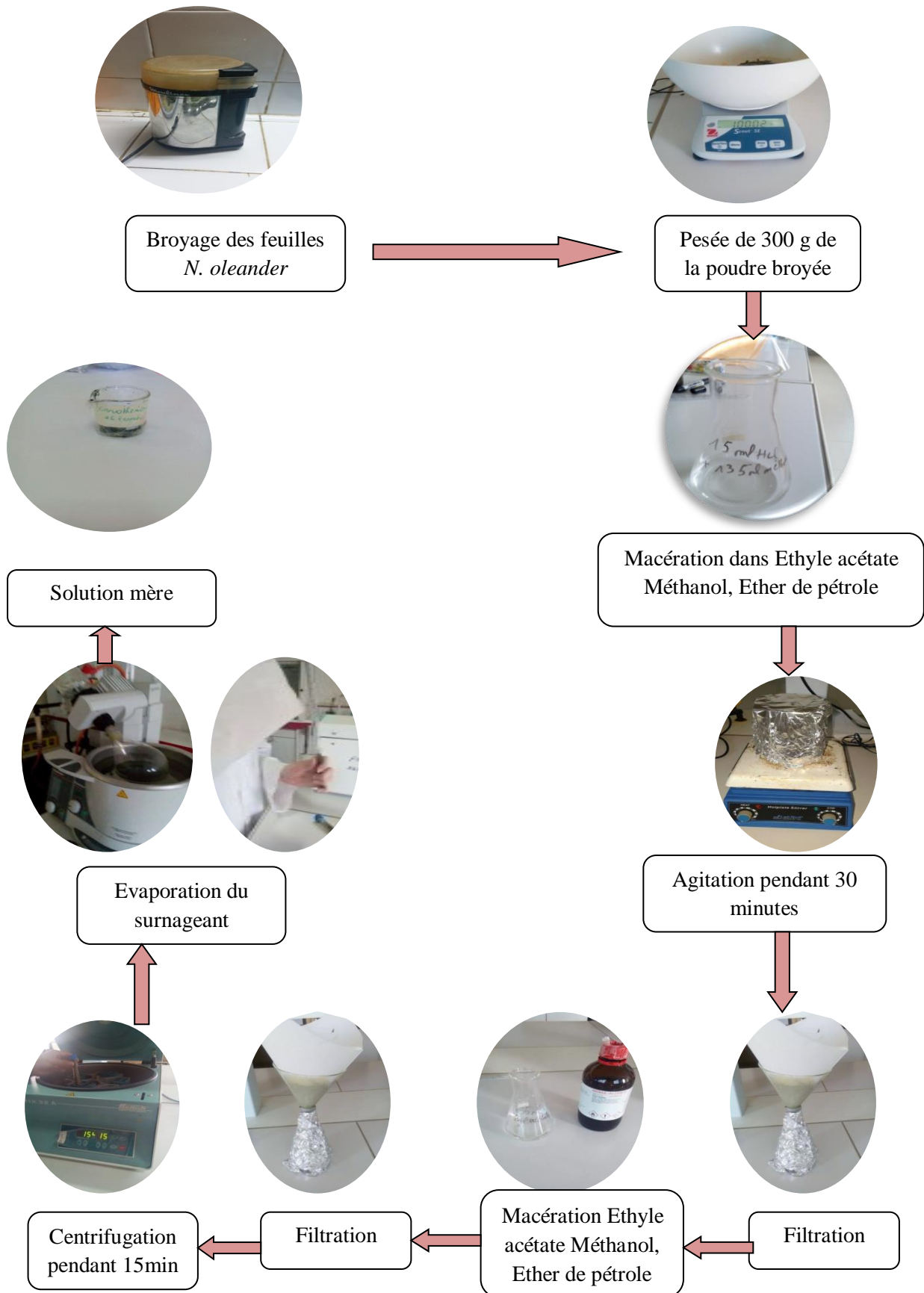


Figure 09 : Préparation de l'extrait caroténoïde par la méthode

(Mokhtar *et al.*, 2014) (Originale, 2018).

IV.4 Le rendement d'extraction :

On calcule le rendement d'extraction après chaque étape 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 %

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

$M_{\text{éch}}$: la masse de l'échantillon végétal en g (Clémence et Dongmo, 2009).

IV.5 Conservation de l'extrait :

L'extrait de *N. oleander* a été préservé dans un flacon protégé avec du papier aluminium pour éviter toute dégradation des molécules par la lumière. Il est ensuite conservé dans le congélateur pour une utilisation ultérieure.

IV.6 L'activité insecticide :

Le test d'activité insecticide des extraits « polyphénols et caroténoïdes » sur le puceron *Aphis spiraeicola* a été inspirée de la technique de l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1963).

IV.6 .1 Préparation des dilutions :

La solution mère de l'extrait brut (10%) est solubilisée dans des volumes variables de l'eau distillée en vue d'obtenir un mélange homogène à différentes concentrations.

Les dilutions de l'extrait ont été préparées comme suite :

- On introduit 1ml de solution mère de l'extrait dans un tube à essai contenant 19ml de l'eau distillée « concentration 5% » ;
- On introduit 2ml de solution mère dans un tube à essai contenant 18ml de l'eau distillée « concentration 10% » ;

- On introduit 3ml de solution mère dans un tube à essai contenant 17ml de l'eau distillée « concentration 15% » ;
- On introduit 4ml de solution mère dans un tube à essai contenant 16ml de l'eau distillée « concentration 20% » ;
- On introduit 5ml de solution mère dans un tube à essai contenant 15ml de l'eau distillée « concentration 25% » ;
- On introduit 6ml de solution mère dans un tube à essai contenant 14ml de l'eau distillée « concentration 30% » ;
- On introduit 7ml de solution mère dans un tube à essai contenant 13ml de l'eau distillée « concentration 35% » ;
- On introduit 8ml de solution mère dans un tube à essai contenant 12ml de l'eau distillée « concentration 40% ».

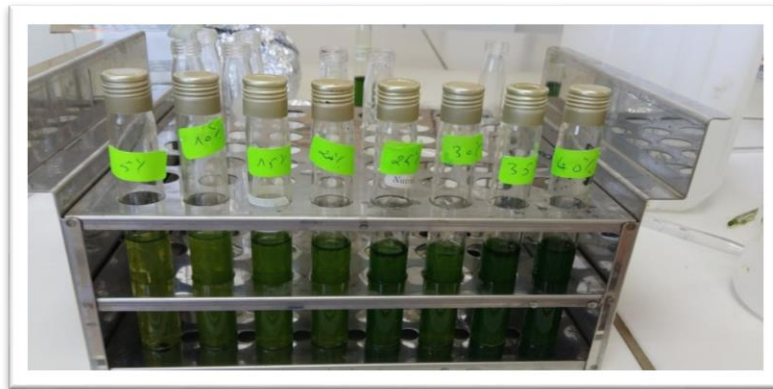


Figure 10 : Les dilutions de l'extrait polyphénole (Originale, 2018)



Figure 11 : Les dilutions de l'extrait de caroténoïde (Originale, 2018)

IV.6 .2 Test de toxicité :

Les tests ont été effectués dans les conditions de températures de $20\pm 3^{\circ}\text{C}$, d'une humidité relative de $48\pm 4\%$ et d'une photopériode naturelle.

Les concentrations de l'extrait « polyphénols et caroténoïdes » à raison de 5%, 10%, 15%, 20% , 25%, 30%, 35% et 40% et des témoins traités avec l'eau distillée.

IV.6.3 Test de contact :

En vue d'évaluer l'effet insecticide de nos extraits, 5 pucerons sont placés dans des boîtes de Pétries aérées de 9 cm de diamètre et de 1,8cm de hauteur, contenant du papier absorbant imbibé de même diamètre que la boîte de Pétrie (garder l'humidité et la fraîcheur de la feuille le plus longtemps possible) sur des feuilles saines d'agrume (qui servira de support de nourriture pour les pucerons), préalablement imprégnées par l'extrait à différentes concentrations « 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% et 40% » (Fig. 12). Neuf répétitions ont été réalisées pour chaque dilution.

Avec trois témoins pour chaque dilution traité avec de l'eau distillée, les boîtes sont ensuite fermées par du para film.

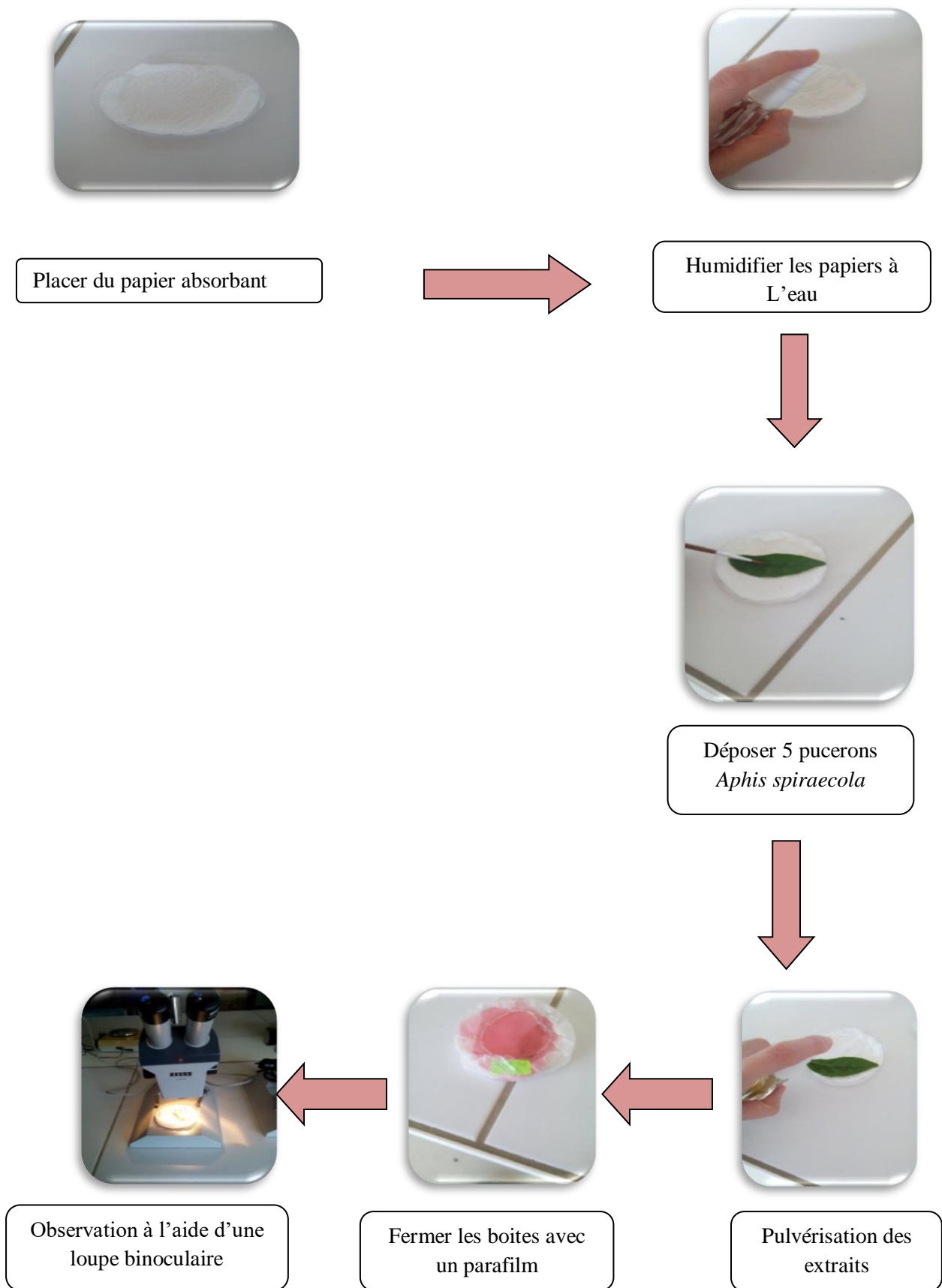


Figure 12 : La préparation du test de l'effet insecticide des extraits polyphénols et caroténoïdes de *N. oleander* (Originale, 2018)



**Figure13 : Disposition des boîtes de pétri contenant les pucerons d'agrumes
(*A. spiraecola*) (Originale, 2018)**

IV .7 Paramètres étudiés :

Nous avons choisi essentiellement un seul paramètre : l'effet des différentes concentrations « 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% et 40% » de l'extrait de laurier rose « polyphénols et caroténoïdes » sur la mortalité du puceron d'agrumes.

L'observation des résultats de mortalité se font sous une loupe binoculaire.

VI.8 Taux de mortalité :

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

Le taux de mortalité est déterminé par la formule suivante :

$$TM\% = \frac{\text{Nombre des insectes mortes} \times 100}{\text{Nombre des insectes}}$$

Afin d'écarter tous les risques de mortalité naturelle, nous avons calculé la mortalité corrigée selon la formule de (Schneider et Oreilli, 1947 in Saiah, 2014).

Mortalité corrigée :

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

Mc% : Mortalité des insectes corrigée

M0% : Mortalité des insectes observée après pulvérisation

Mt% : Mortalité des insectes observées dans le témoin

Les taux de mortalité ont été transformés en probits 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).

VI.9 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 au pourcentage 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).

VI.10 Analyse statistique :

Afin 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 ont été effectués ($P=0,05$) avec le logiciel STABOX.

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

- 0*** : hautement significatif
- 0,001** : très significatif
- 0,01* : significatif
- 0,05 : moyennement significatif
- 0,1 : peu significatif

CHAPITRE IV

Matériels et Méthodes

CHAPITRE V

Résultats et discussions

V.1. Rendement de l'extraction :

Les rendements des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité des substances végétales extraites sur la quantité de la matière végétale utilisée.

Le rendement d'extraction de la plante *N. oleander* obtenu par la méthode de Clémence et Dongmo (2009) a été de l'ordre de 8,9% pour les polyphénols et de 5,56% pour les caroténoïdes.

V.2. Résultats du test d'efficacité des deux insecticides sur le puceron vert d'agrumes (*Aphis spiraecola*)

V.2.1. Traitement par l'extrait polyphénole de *N. oleander* :

La figure14 montre l'évolution des taux des mortalités d'*Aphis spiraecola* par rapport aux témoins en fonction de la dose de l'extrait polyphénolique des feuilles de *N. oleander* utilisée et du temps. On observe une variation du taux de mortalité avec la dose de l'extrait testé et le temps.

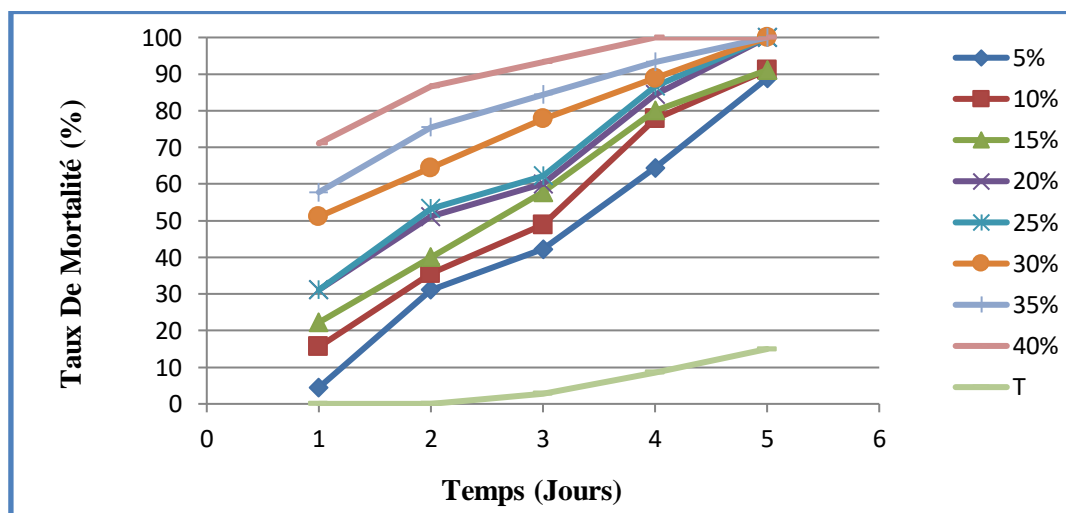


Figure14 : L'évolution du taux de mortalité d'*A. spiraecola* sous l'effet de l'extrait de polyphénols de *N. oleander*

En effet les témoins n'ont enregistrées aucune mortalité les deux premiers jours, la mortalité a été observée qu'au 4^{ème} jour avec un taux de mortalité de 8,6%, ensuite au 5^{ème} jour avec un taux de mortalité de 15%, on remarque que le taux de mortalité est significativement supérieur chez les pucerons traités par rapport au témoin. Au premier jour de la pulvérisation les concentrations 5% ,10% et

15% ont provoqué un taux de mortalité de 4,4%, 15,55% et 22,22%. Ce n'est qu'à partir de 48h de l'exposition à l'extrait que nous avons remarqué une sensibilité accrue du puceron vis-à-vis du traitement avec un taux de mortalité qui a montré une augmentation proportionnelle au temps. La concentration à 5%,10% et 15% ont provoqué un taux de mortalité de 31,1%, 35,55% et 40% après 48h de l'exposition à l'extrait de *N. oleander*. L'élimination de plus de 60% des individus d'*A. spiraecola* a été observée le quatrième jour, la mortalité de 100% n'a été obtenue qu'au cinquième jour de l'exposition à l'extrait de polyphénols(Fig .14).

Pour les concentrations 20% et 25% on a enregistré des taux de mortalité respectifs de 31,1% et 32,1% après 24h du traitement, et des taux de mortalité de 51,08% et 53,33% au deuxième jour. Il nous a été permis d'enregistrer des taux de mortalité dépassant les 60% au troisième jour, et plus de 84% au quatrième jour de l'exposition à l'extrait de polyphénols. Alors que la mortalité maximale à 100% a été enregistrée qu'au cinquième jour pour les deux concentrations (Fig.14).

On a remarqué que les concentrations 30% et 35% ont éliminé plus de 50% de population de larve d'*A. spiraecola* dès le premier jour d'exposition. Au deuxième jour après traitement, nous avons noté des taux de mortalité respectifs de 64,44% et 75,53%. La mortalité enregistrée sur les pucerons traités a montré une nette augmentation avec le temps. En effet, on a enregistré un taux de mortalité de plus de 80% au 3^{ème} jour, la mortalité complète de la population initiale du ravageur s'est fait à partir du 4^{ème} jour, avec 100% de mortalité (Fig.14).

La 8^{ème} concentration (40%) soit la plus élevée a causé un taux de mortalité de 71,1% observé après 24 h de l'exposition. Les taux de mortalité noté par la suite ont de 85%, 93,33% et 100% respectivement pour les 2eme, 3eme et 4eme jours d'observation après traitement (Fig.14).

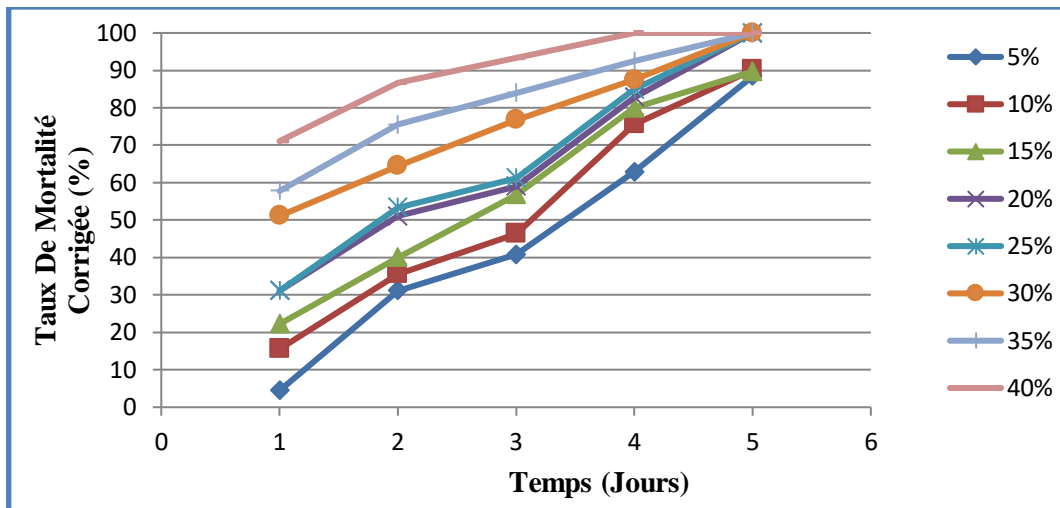


Figure15 : Evolution de la mortalité corrigée de l'extrait de polyphénols de *N. oleander* sur *A. spiraecola*

La figure 15 illustre l'évolution des taux de mortalité corrigée d'*A. spiraecola* en fonction du temps et de la dose de l'extrait de *N. oleander* utilisée. Les concentrations de l'extrait de polyphénols 5%, 10%, 15% et 20% ont provoqué une mortalité respective de 88,4%, 90,1%, 89,67% et 100% au 5^{ème} jour. Il en ressort que la plus forte dose 40% occasionne une mortalité totale de 100% des pucerons traités au 4^{ème} jour d'exposition.

V.2.1.1. Les doses létales 50 et 90:

A partir de l'équation de la droite de régression linéaire représentée dans la figure16 correspondant aux taux de mortalité corrigée en fonction des concentrations de l'extrait polyphénols de *N. oleander* sur *A. spiraecola*, la DL50 obtenue a été égale à 7,95 et la DL90 à 41,44.

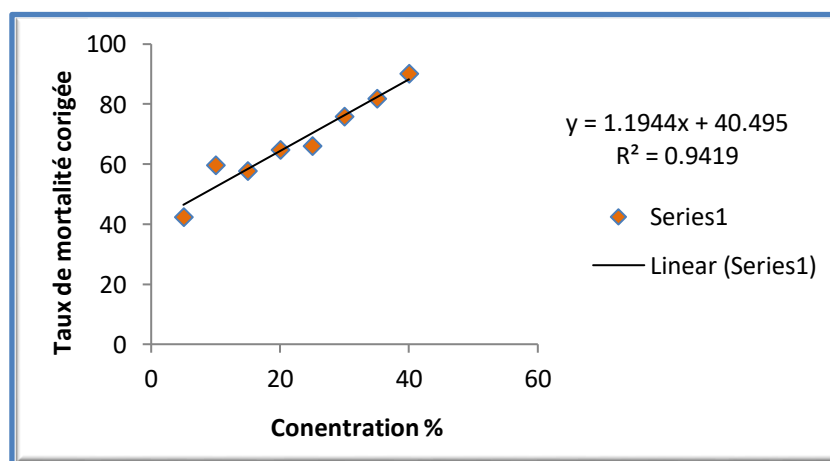


Figure16 : Efficacité de l'extrait polyphénole de *N. oleander* sur *A. spiraecola*

La Fig16 représente la relation proportionnelle qui existe entre les différentes concentrations et la mortalité corrigée causée par l'extrait de polyphénols de *N. oleander*. Cette dernière démontre une corrélation de l'extrait et la mortalité d'*A. spiraeicola* avec un coefficient de 0,94. Ces résultats montrent que l'extrait polyphénols des feuilles fraîches de *N. oleander* nécessite une dose faible pour tuer 50% et une dose moyenne pour tuer 90% de la population des insectes traité.

V.2.2 Traitement par l'extrait caroténoïde de *N. oleander* :

La représentation des graphiques dans la figure17 indique l'évolution des taux de mortalité d'*A. spiraeicola* par rapport au témoin en fonction de la dose de l'extrait de caroténoïde des feuilles et fleurs de *N. oleander* utilisée et du temps.

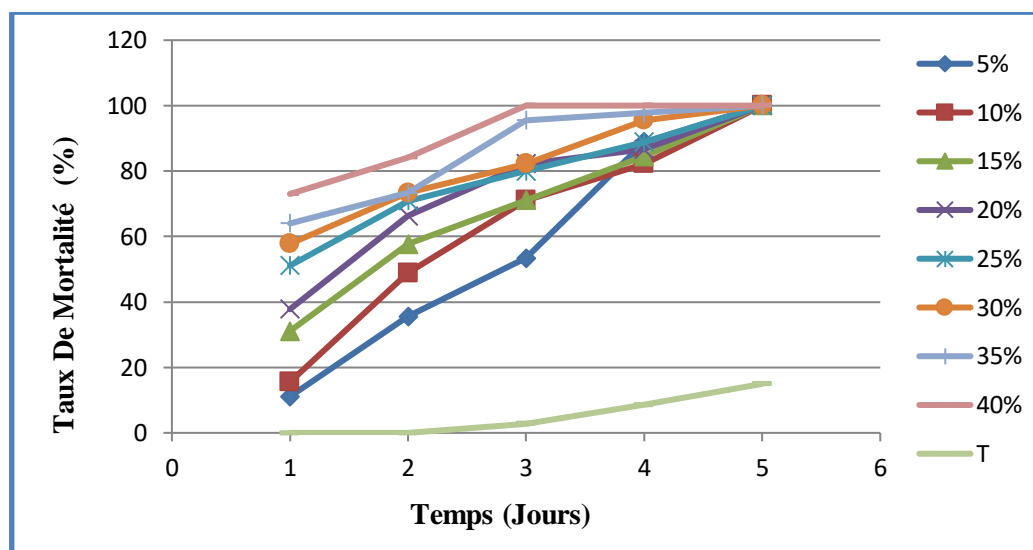


Figure 17 : L'évolution du taux de mortalité d'*A. spiraeicola* sous l'effet de l'extrait de caroténoïde de *N. oleander*

On remarque un effet insecticide important après les 72h pour les huit doses choisies comparativement aux témoins. En effet les témoins n'ont enregistrées aucune mortalité qu'après 72h du traitement, où a été enregistré des taux de 2,77% et 8,6%, et 15% pour le 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} jour (Fig.17).

Après 72h d'exposition au traitement, les doses étudiées ont montré une activité insecticide pour les doses 5%, 10%, 15% de plus de 50%. Alors qu'on remarque une importante activité insecticide pour les doses 20%, 25%, 30% et 35% qui sont respectivement de 60, 62,22, 77,77 et 84,44% et une mortalité totale après le 5^{ème} jour de traitement (Fig.17).

La dose de 40% a donné le meilleur résultat après un temps d'exposition de 24h avec un taux de mortalité de 71,1% et une mortalité totale à partir du 4^{ème} jour d'exposition (Fig.17).

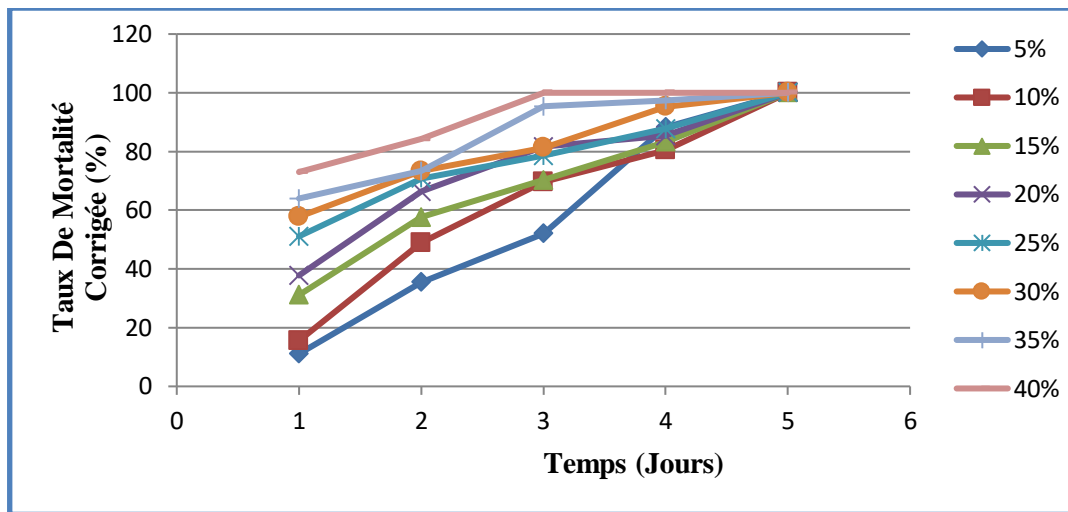


Figure18 : Evolution de la mortalité corrigée de l'extrait de caroténoïdes de *N. oleander* sur *A. spiraeicola*

A travers la figure18, les observations indiquent que les concentrations de l'extrait de caroténoïde de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% ont provoqué une mortalité respective de 52,06 , 69,67 , 70,31 , 81,58 et 78,57% au 3^{ème} jour d'exposition à l'extrait caroténoïde . En effet, l'effet insecticide le plus important a été obtenu aux doses de 35 et 40% avec un taux de mortalité respectif de 100%.

V.2.2.1. Les doses létales 50 et 90 :

A partir de l'équation de la droite de régression linéaire représentait dans la figure 19 correspondant aux taux de mortalité corrigée en fonction des concentration de l'extrait de caroténoïde de *N. oleander* sur *A. spiraeicola* , la DL50 obtenue a été égale à 7,11 et la DL90 à 39,11.

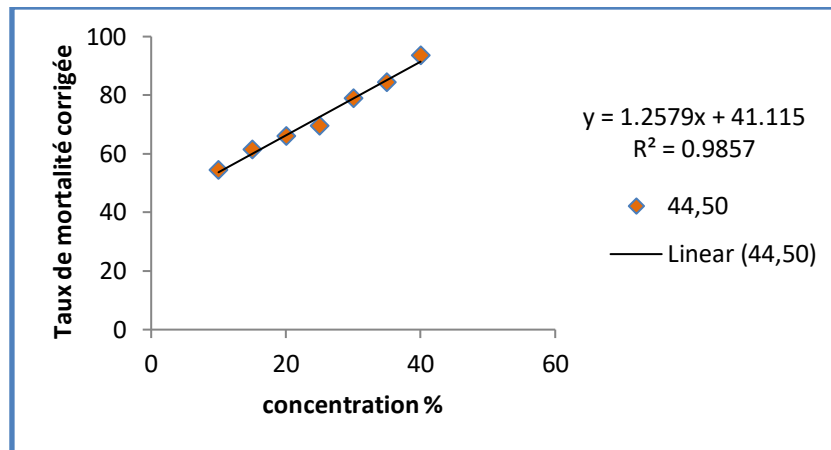


Figure19 : Efficacité de l'extrait de caroténoïde de *N. oleander* sur *A. spiraecola*

D'après les doses obtenues, la DL50 de l'extrait de caroténoïde a présenté une dose faible pour tuer 50% de la population d'*A. spiraecola* et une dose moyenne pour tuer 90% (Fig.19).

La comparaison entre les valeurs obtenues de DL 50, nous permet de dire que la DL 50 de l'extrait des polyphénols a été inférieure à l'extrait de caroténoïde.

Tous ces tests effectués peuvent certifier que le traitement des pucerons par l'extrait de polyphénols et de caroténoïdes pourrait être un bon moyen de lutte naturelle à préconiser dans le contrôle de la population d'*A. spiraecola*.

V.3. La comparaison entre l'activité insecticide des deux extraits « polyphénol et caroténoïde » sur le puceron :

La comparaison du pouvoir insecticide des deux extraits de plante *N. oleander* sur les populations des pucerons des agrumes *A. spiraecola* est reportée sur la figure 20.

Des taux de mortalités différents ont été notés pour les deux extraits « polyphénol et caroténoïde ». Une mortalité importante de l'ordre de 45,51% a été notée à la concentration 5% pour les polyphénols, alors qu'un taux de mortalité de 57,33% a été enregistré pour les caroténoïdes.

En outre, à la concentration 35% et 40% pour les deux extraits « polyphénol et caroténoïde » une mortalité importante a été enregistrée dépassant les 90%.

D'après la figure 20 on remarque qu'il y a une petite différence entre l'activité insecticide de polyphénols et caroténoïdes sur le puceron *A. spiraecola*. L'effet de

polyphénols est moins efficace que l'effet de caroténoïde, cette différence d'efficacité est due à l'effet de congélation des polyphénols durant toute la saison de l'hiver.

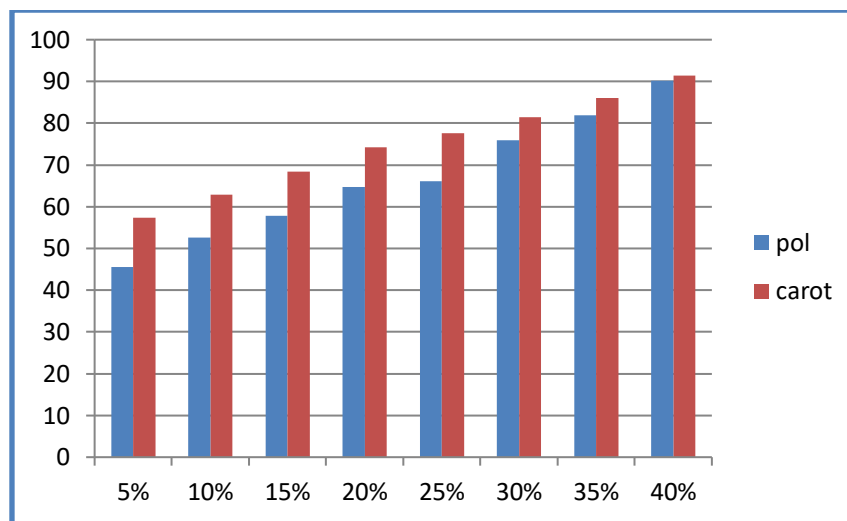


Figure 20 : Comparaison de l'activité insecticide des deux extraits « polyphénol et caroténoïde » de *N. oleander* sur *A. spiraeola*

V .4. Les analyses statistiques :

L'analyse de variance à deux critères de classification indique une différence hautement significative, le taux de mortalité croît selon les concentrations, le facteur 1 (jour) ($F= 47,199$ et $P=0$) et aussi pour le facteur 2 (traitement) ($F=33,84$ et $p=0$) pour le polyphénol, et hautement significative pour le caroténoïde, le facteur 1 (jour) ($F=34,48$ et $p= 0$) et pour le facteur 2 traitement ($F=29,42$ et $p=0$)

Le test de Newman-Keuls, au seuil de signification 5%, classe les huit doses de polyphénol dans 5 groupes homogènes. Le groupe A Correspond au doses 30%, 35% et 40% ; le groupe B correspond aux doses 20%, 25% et 30% ; le groupe C correspond au doses, 10%, 15%, 20%, et 25% ; groupe D correspond au doses 5%, 10% et 15% ; et le groupe E correspond au témoin.

Le plus faible effet est enregistré dans le groupe E correspondant au témoin (eau distillée) avec une moyenne de 5,05 par contre le plus grand effet est enregistré dans le groupe A, le groupe B et le groupe C qui sont représentés par les doses : 20%, 25%, 30%, 35% et 40% avec les moyenne de 65,32 ; 66,66 ; 76,43 ; 82,21 et 90,2.

Le test de Newman-Keuls, au seuil de signification 5%, classe les huit doses de Caroténoïde dans 5 groupes homogènes. Le groupe A correspond au doses 20%, 25%,

30 %, 35% et 40% ; le groupe B correspond aux doses 10%, 15%, 20%, 25% et 30% ; le groupe C correspond aux doses 10%, 15%, 20%, 25 % et 30% ; groupe D correspond aux doses 5%, 10%, 15% et 20% ; et le groupe E correspond au témoin.

Le plus faible effet est enregistré dans le groupe E correspondant au témoin (eau distillée) avec une moyenne de 5,05 par contre le plus grand effet est enregistré dans le groupe A, le groupe B et le groupe C qui représentent les doses : 20% ,25%, 30%, 35% et 40 % avec les moyennes de 74,59 ; 78,17 ; 81,77 ; 86,13 et 91,44.

V .5 Discussion :

L'ensemble des résultats obtenus dans nos conditions expérimentales montre que les deux tests testés ont présenté une nette action insecticide sur le puceron vert d'agrumes. Ces derniers permettent de causer des taux de mortalité avoisinant les 100%. Ils ont montré une efficacité élevée contre d' *A. spiraecola* en relation avec leurs concentration.

Durant cette expérience, nous avons testé la technique d'activité par contact, les résultats ont montré des effets insecticides très important variant en fonction, des volumes utilisés et du temps. Une diminution graduelle de survie de l'insecte a été observée en fonction de l'augmentation des doses pour les deux produits.

L'absence de mortalité au niveau du témoin montre que la mortalité peut être essentiellement causée par l'effet insecticide des extraits testés.

Les DL50 obtenues confirment que les deux extraits ont une activité é insecticide par effet de contact.

Plusieurs études ont été menées pour comprendre les mécanismes d'action de plantes, dont plusieurs attribuent cette fonction aux composants phénoliques (Bastien, 2008). Alors que keane et Ryan (1999) suggèrent que le mono terpène inhibe le cholinestérase.

Le but de la présente étude était de démontrer « *in vitro* » l'effet insecticide de deux extraits « polyphénols et caroténoïdes » de laurier rose sur le puceron d'grume *Aphis spiraecola*, le traitement par l'extraits des plantes contre le puceron *d'Aphis spiraecola* a permis d'établir les doses létales DL50 et DL90. Les extraits montrent une activité insecticide avec une relation dose réponse.

Nos résultats montrent que le laurier rose, largement disponible en tant que plante spontanée peut constituer un outil alternatif prometteur pour la lutte contre le puceron *d'Aphis spiraecola*.

Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production des biopesticides. Il serait très intéressant de poursuivre cette étude afin de préciser la nature du ou des composé (s) responsable(s) de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les tests biologiques. La voie donc reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autres espèces de plantes pour voir l'effet de ces biopesticides sur d'autres insectes nuisibles.