



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie**

---

**Mémoire pour l'obtention de Diplôme de Master**  
**En Valorisation des Substances Naturelles et Végétales**

**Thème :**

**Etude de l'effet bio-insecticide des extraits méthanoïques  
du *Pistacia Lentiscus* sur  
*Toxopetra aurantii***

**Présenté par :**

**M<sup>elle</sup> Soumia Bouchareb**

**Soutenu publiquement le : 05 /05/2016**

**Devant le jury :**

Présidente	M <sup>me</sup> Saïah Farida	M.C.B U.Mostaganem
Encadreur	M <sup>me</sup> Boualem Malika	M.C.B U.Mostaganem
Exanilateur	M <sup>me</sup> Benourad Fouzia	M.C.B U.Mostaganem

**Année universitaire : 2015/2016**

## Liste des abréviations :

- DI :dose létale .
- ED :eau distillée .
- Fig : figure .
- Ml :mililètre .
- MS :matière sèche .
- Mext :la masse de résidu après l'évaporation du solvant en g.
- Méch ;la masse de l'échantillon végétal en g.
- R : rendement (en %) .
- Méch ; est la masse de l'échantillon végétal en g.
- P .lentiscus :pistacia lentiscus.
- Syn :synonyme.
- SNV : science naturelle et végétal.
- T :témoin.

## La liste des figures :

Figure 01 : Arbuste de <i>P. lentiscus</i> .....	2
Planche 1 : Différentes parties végétales du <i>Pistacia lentiscus</i> .....	4
Figure 02 : Répartition géographique du <i>P. lentiscus</i> dans le monde.....	5
Figure 03 : <i>Toxopetra aurantii</i> .....	10
Figure 04: Morphologie d'un puceron.....	12
Figure 05 : Cycle de développement des pucerons.....	13
Figure 06 : représentation schématique du cycle de vie des pucerons.....	15
Figure 07: Biosynthèse des composés phénoliques par voie de shikimate.....	21
Figure 08 : Squelette de base des flavonoïdes .....	22
Figure 09: Biosynthèse des flavonoïdes.....	23
Figure 10 : Les classes des composées phénoliques.....	24
Figure11 : Structures chimiques de quelques exemples dérivés de l'acide benzoïque.....	25
Figure12 : Structure de l'acide caféïque.....	26
Figure 13 : Squelette de base des sous classes de flavonoïdes.....	27
Figure 14 : Structure de l'acide gallique (1) et ellagique (2).....	28.
Figure15 : Structure de tanins hydrolysables.....	29
Figure 16: Feuilles de <i>P. lentiscus</i> au laboratoire avant le séchage.....	34
Figure 17 : <i>Toxoptra aurantii</i> utilisé.....	36
Figure 18 : technique d'extraction par Soxhlet.....	37
Figure 19 : montage technique d'extraction par Soxhlet.....	37
Figure 20 : L'évaporation rotatif BUCH R-210.....	38
Figure 21 : le taux d'humidité de <i>P. lentiscus</i> .....	43
Figure 22: L'évolution du taux de mortalité cumulé de <i>P.lentiscus</i> sur <i>Toxoptera aurantii</i> .....	46
Figure 23 : L'évolution de la mortalité corrigée de l'extrait de <i>P. lentiscus</i> sur <i>T.aurantii</i> .....	48

# La liste des figures

---

## La liste des tableaux

Tableau 01: Structures chimiques des unités monomériques constitutives des tanins condensés.....	30
Tableau 02 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques.....	31
Tableau 04 : Le taux d'humidité du <i>P. lentiscus</i> .....	43
Tableau 05 : Mortalité des pucerons selon la période de traitement.....	45
Tableau 06: résultat les naissances durant la période du test.....	47

## I-Présentation de l'espèce *Pistacia lentiscus*

### Généralité :

*Pistacia lentiscus* est un genre qui appartient à la famille des Anacardiacees ou Pistaciacees (Delazar *et al.*, 2004). Il comprend les espèces qui sont des plantes dioïques dont la majorité est connue pour leur capacité à produire les oléorésines (Onay, 2000).

### I-1-Etude botanique de *Pistacia Lentiscus* :

#### I-1-1-Description de la plante (Iserin, 2001):

*P. lentiscus*, *Darou* en arabe local, est un arbrisseau vivace de 3m de hauteur, ramifié, à odeur de résine fortement âcre (Fig.01).



Figure 01 : Arbuste de *P. lentiscus* (Originale, 2016).

Le lentisque est caractérisé par (Pl. 01) :

- **Ecorce**: rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte (Pl.01.A)
- **Branches** : tortueuses et pressées, forment une masse serrée (Pl.01.B);

- **Feuilles:** elles sont persistantes, composées, et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai (Pl.01.C).
- **Fleurs :** les fleurs unisexuées d'environ 03 mm de large se présentent sous forme de grappe, Elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. On différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles. Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents, les mâles ont 5 petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère. Les femelles, à 3 ou 4 sépales ont un ovaire supère avec un style court à 3 stigmates. La floraison est lors du mois de Mars à Mai (Pl.01.C).
- **Fruit :** est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète en automne (Pl.01.D).
- **Mastic :** si l'on incise le tronc de ce végétal, il s'en écoule un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (PL.01.F).



A. Beñabid

**A. Ecorce de *P. lentiscus***



**B. Branches de *P. lentiscus***



**C. Feuilles de *P. lentiscus***



**D. Fleurs de *P. lentiscus***



**E. Fruits de *P. lentiscus***



**F. Mastic de *P. lentiscus***

**Planche 1 : Différentes parties végétales du *Pistacia lentiscus*  
(Originale, 2016)**

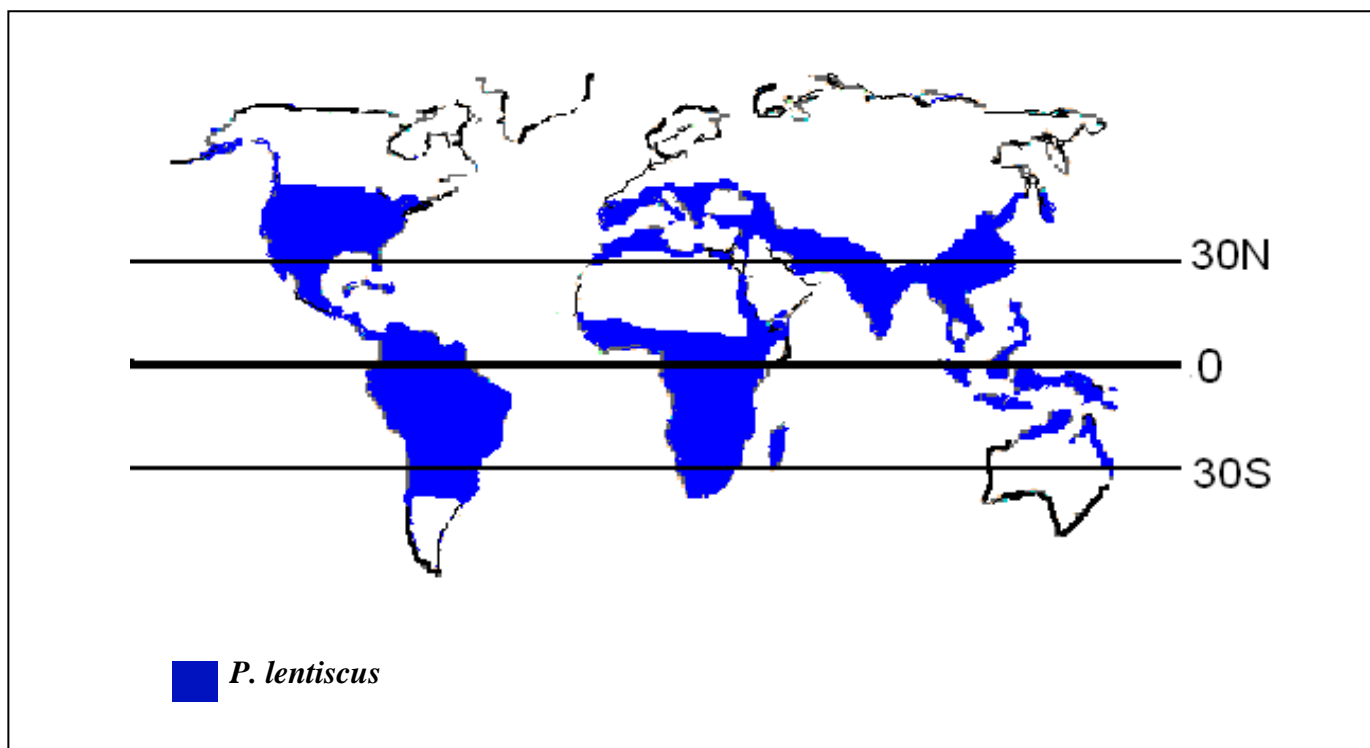
**I-1-2-Taxonomie du *P. lentiscus* (Belhadj, 2000):**

Règne :	Végétale
Sous règne :	Tracheobionata plantes vasculaires
Embranchement :	Magnoliophyta ou Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Magnoliosida Dicotylédones- Dialypétales, Disciflores
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Sapindales (Rutales)
Famille :	Anacardiaceés térébinthacées
Genre :	<i>Pistacia lentiscus</i> - pistache
Espèce :	<i>Pistacia lentiscus</i> L.

**I-1-3-Répartition géographique de *P.lentiscus* :**

Le genre botanique *Pistacia* (les Pistachiers) regroupe 9 espèces d'arbustes appartenant à l'ordre des Sapindales et à la famille des Anacardiaceae.

La présence de *P. lentiscus* est en région tropicale mais aussi dans la région méditerranéenne, dans l'Est de l'Asie et en Amérique ( Fig. 02) (Kokwaro 1986).



**Figure 02 : Répartition géographique du *P. lentiscus* dans le monde (Anonyme, 2016)**

## **I-2-Etude chimique de *P. lentiscus* :**

Le *P. lentiscus* est très riche en quercétine-3- glucoside, mais les quercétine-3- galactoside et le kaempférol-3-glucoside et la quercétine-3- rutinose ont été trouvée sous forme de traces (Kawashty *et al.*, 2000). D'après Nagao *et al.* (1999), les flavonoïdes et les tannins ont montré leur capacité antioxydante à inhiber l'oxydase xanthine chez *P. lentiscus*. L'acide gallique et ses dérivés polygalloyl sont responsables à piéger les radicaux libres chez les deux pistachiers (Baratto *et al.*, 2003).

L'huile essentielle de cette espèce est caractérisée par une haute fraction oxygénée en plein floraison (Gardeli *et al.*, 2008).

Notant que, les principaux constituants sont le upinène,7-terpinène et terpinene-4-ol (Ben Douissa *et al.*, 2005).

## **I-3-Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de *P. lentiscus***

### **I-3-1-Propriétés et usage thérapeutiques :**

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (Ouelmouhoub, 2005). La résine est utilisée comme antiseptique du système respiratoire (Duru *et al.*, 2003).

Les feuilles sont pourvues d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante (Villar *et al.*, 1987). Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, les infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires (Ali-Shtayeh *et al.*, 2000).

Le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, diarrhée, infections bactériennes, ulcères gastroduodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire (Baytop, 1984).

### **I-3-2-Utilisation thérapeutique traditionnelle :**

Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuées au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, des plaies et brûlures légères. La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes.

L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma). L'huile est également très utilisée pour les mêmes indications en Tunisie (Iserin, 2001).

#### **I-4-Données toxicologiques de *P. lentiscus***

Les données toxicologiques de la gomme mastic ont été rapportées concernant la toxicité aiguë, irritation de la peau et la photo-toxicité chez les animaux et les humains (Ford *et al.*, 1992).

#### **I-5-Produits et dérivés à base de *P. lentiscus* (Seigue, 1985) :**

- **Bois** : pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie.
- **Résine** : Des branches et du tronc exsude naturellement ou par incision une résine jaune claire fortement aromatique qui durcit au contact de l'air qui est appelée mastic ou gomme mastic d'où son nom commun d'arbre à mastic, généralement la production est d'environ 4 à 5 kilos par arbuste.
- **Essence de mastic**: Après distillation du mastic est récupérée une essence qui entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique.
- **Essence des feuilles et rameaux** : De ces parties est extraite une huile essentielle qui est utilisée en aromathérapie et phytothérapie pour ses propriétés décongestionnantes, prescrite aussi pour traiter les problèmes veineux dont les hémorroïdes.
- **Huile de lentisque** : Du fruit comestible est extraite une huile qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savons. L'huile est produite à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Milia, Skikda), où l'espèce abonde. Un procédé traditionnel est utilisé à cet effet : Les fruits atteignent leur maturité vers la fin d'été début de l'automne. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge. Les baies sont récoltées à la main, macérées dans de l'eau chaude et puis écrasées à l'aide d'une presse. Des baies s'exultent un liquide épais de couleur jaune vert. L'huile est récupérée par décantation.

## II- Présentation des pucerons

### Généralité :

Les pucerons au sens large ou Aphidoidea (Fig 03) constituent un groupe d'insectes piqueurs-suceurs à corps mou apparu il y a 280 millions d'années (Grimaldi *et al.*, 2005).

Ils appartiennent à l'ordre des Hemiptera et au sous-ordre des Sternorrhyncha qui compte également trois autres super-familles : Coccoidea (cochenilles), Aleyrodoidea (aleurodes) et Psylloidea (psylles). Les pucerons se développent dans les zones tempérées de l'hémisphère nord aussi bien sur des plantes sauvages que cultivées, ornementales ou forestières. Environ 40% des espèces d'Aphidoidea passent tout ou une partie de leur cycle de vie sur un arbre hôte, tandis que 55% se développent sur les plantes herbacées et les arbustes, les 5 % restant vivant sur un hôte inconnu (Blackman *et al.*, 1994).

Les espèces d'Aphididae modernes résultent d'une radiation évolutive des pucerons parallèle à celle des Angiospermes et Gymnospermes modernes qui ont eu lieu à la fin du Crétacé (Peccoud *et al.*, 2010).

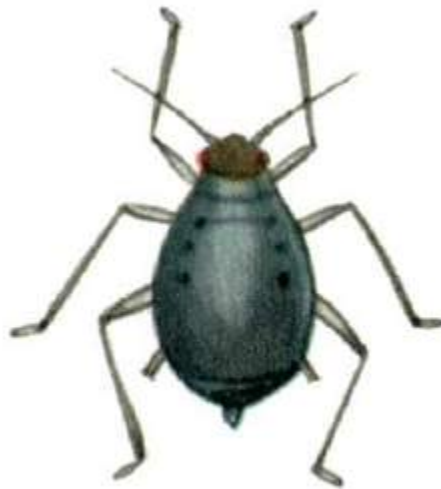


Figure 03 : *Toxoptera aurantii* (wikipedia)

### II-1-Systématique :

Les aphides ou pucerons classés dans le Super-ordre des Hémiptéroïdes, appartiennent à l'ordre des Homoptères au sous-ordre des Aphidinea, et à la Super-familles des Aphidoidea (Fraval, 2006).

Cette dernière se subdivise en deux grandes familles qui sont les Chermisidae et les Aphididae. Cette dernière est divisée en huit sous familles; celles : des Telaxidae, des Pemphigidae,

des Lachnidae, des Chaitoridae, des Callaphididae, des Aphididae, des Adelgidae, des Phylloxeridae (Bonnemaïson, 1962).

La famille des Aphididae est divisée en trois sous-familles, celle : des Blatichaitophorinae, des Pterocommatinae et des Aphidinae. Les espèces de cette dernière sont réparties entre deux tribus, les Aphidini et les Macrosiphini (Ortiz-Rivas *et al.*, 2010).

Remaudière *et al.* (1997) classent les pucerons dans leur catalogue « les Aphididae du monde » comme suit :

Embranchement :	Arthropode
Classe :	Insectes
Ordre :	Homoptères
Super /famille :	Aphidoïdidae
Famille :	Aphididae

## II-2- Caractéristiques morphologiques des aphides :

Les pucerons sont des insectes aux téguments mous de petite taille, mesurant entre 2 à 4mm avec un corps ovale un peu aplati. Ce dernier est partagé en trois parties bien distinctes (la tête, le thorax, et l'abdomen) (Fig.04) (Tanya, 2002).

- **La tête :** Généralement, elle est bien séparée du thorax chez les formes ailées, mais non chez les aptères ; elle porte deux antennes de longueur très variable de 3 à 6 articles, sont insérées directement sur le front ou sur des tubercules frontaux plus ou moins proéminentes. Certains articles antennaires possèdent des organes sensoriels appelés les sensoriels ; leurs partie distale amincie est nommée fouet ou processus terminales à l'arrière de l'œil composé (Fraival, 2006).
- **Le thorax :** Il comprend trois segments : le prothorax, le mésothorax, et le métathorax, porte 3 paires de pattes et primitivement deux paires d'ailes. Cependant, chez la plupart des espèces des pucerons coexistent des formes adultes ailées et des formes adultes aptères. Chez certaines espèces, la nervation des ailes peut être caractéristique ; les ailes antérieures présentent plusieurs nervures (Hein *et al.*., 2005).

Ce sont toutes des nervures simples, sauf la nervure médiane qui se manifeste chez la plupart des espèces. Cependant la nervation peut être (Godin *et al.*, 2002) :

- Non ramifiée;
- Ramifiée, une seule fois;
- Ramifiée, deux fois.

- **L'abdomen** : L'abdomen porte généralement dans sa partie postérieure une paire de cornicules (ou siphons) de forme et de longueur très variables, Parfois pourvues d'une réticulation ou surmontées d'une collerette (Hein *et al.*, 2005).

Les cornicules manquent dans quelques genres et parfois même selon les formes dans une même espèce (Lien *et al.*, 2001).

Le dernier segment abdominal (10ème) forme la queue (cauda) plus ou moins développée et de forme variable selon les espèces (Fredon, 2008).

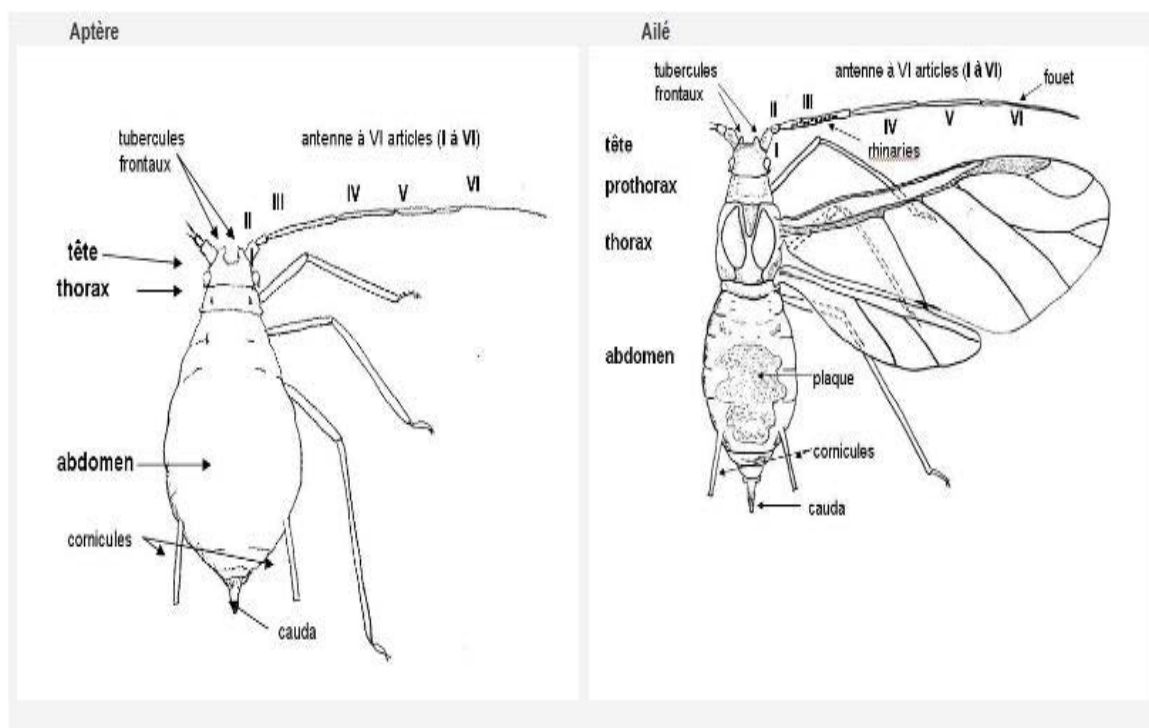


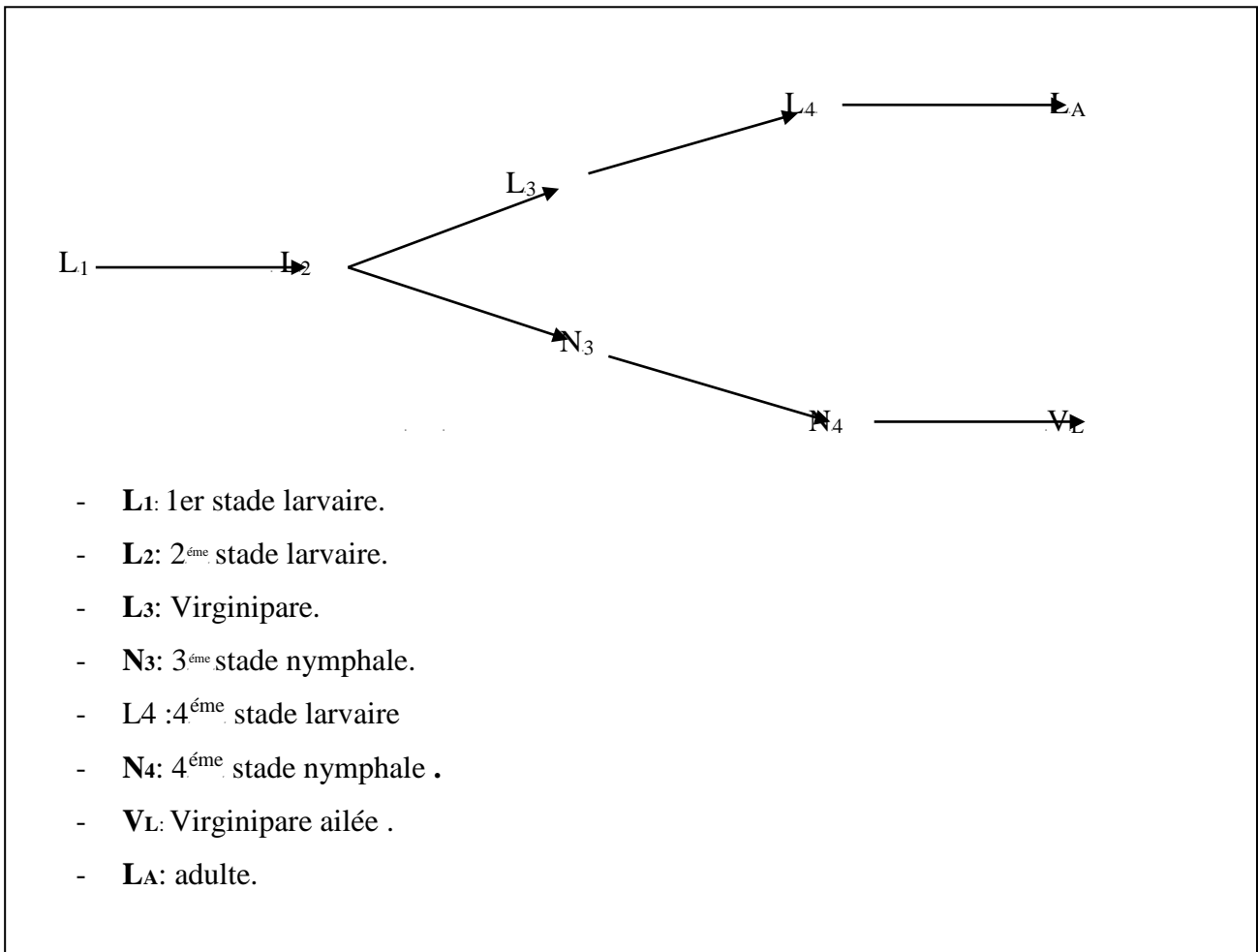
Figure 04: Morphologie d'un puceron (Sekkat, 2007)

### II-3-Biologie :

Les pucerons sont hémimétaboles, les œufs sont minuscules à peu près sphériques. Habituellement gris foncé ou noir, mesurent environ 0,5 à 1 mm de long et sont pondus en groupe ou isolément selon les espèces (Sutherland, 2006).

Les différents stades larvaires ressemblent aux adultes aptères mais de petite taille et certains caractères sont parfois moins prononcés (Fredon, 2008).

On peut schématiser le développement larvaire d'un puceron comme ci-dessous (Fig05) :



**Figure 05 : Cycle de développement des pucerons (Dedryver, 1982).**

Le passage des pucerons par ces stades successifs en se débarrassant de l'exosquelette (phénomène de mue) est dû à la cuticule rigide qui inhibe la croissance progressive (Dedryver, 1982).

- **Reproduction :** Les pucerons sont dotés d'une capacité de multiplication très élevée: 40 à 100 descendants par femelle, ce qui équivaut à 3 à 10 pucerons par jour pendant plusieurs semaines (Kos *et al.*, 2008).

Une femelle aphide (comme le puceron vert du pêcher ou le puceron cendré du chou) est capable d'engendrer jusqu'à 30 à 70 larves (Benoit, 2006).

- **Cycle biologique :** Le cycle évolutif des pucerons est dit hétérogonique c'est-à-dire caractérisé par l'alternance d'une génération sexuée et d'une ou plusieurs générations parthénogénétiques (asexuées) avec une reproduction asexuée largement dominante sur la reproduction sexuée (Christelle, 2007).

La conséquence de cette reproduction asexuée est due à une multiplication très rapide de la population de pucerons. Les femelles fécondées sont toujours ovipares, alors que les femelles parthénogénétiques sont vivipares (elles donnent directement naissance à de jeunes larves capables de s'alimenter et de se déplacer aussitôt produites) (Lambert, 2005).

Il existe différents types de cycles de vie des pucerons selon les espèces. Certaines espèces accomplissent la totalité de leur cycle évolutif sur des plants de la même espèce ou d'espèces très voisines ; elles sont dites monoeciques. Par contre d'autres espèces nécessitent pour l'accomplissement de leur cycle complet deux plantes hôtes non apparentées botaniquement (Simon, 2007).

Ces espèces sont dites hétéroeciques (ou dioeciques). La plante sur laquelle est pondu l'œuf d'hiver est appelée l'hôte primaire, l'autre étant l'hôte secondaire, généralement c'est une plante herbacée sur lequel émigre les fondatrigenes ailées. Dans les régions tempérées, les pucerons présentent un cycle annuel complet (holocycle) à deux hôtes (dioécique). Dans les conditions défavorables de l'hiver, la plupart des pucerons hivernent sous forme d'œufs sur les plantes vivaces ou dans les débris végétaux. Ils peuvent résister à des températures plus basses de l'ordre de  $-10^{\circ}\text{C}$  à  $-15^{\circ}\text{C}$ . Certains hivernent sous forme de femelles adultes (Eaton, 2009).

Les œufs fécondés éclosent au printemps et produisent une génération de femelles aptères appelées fondatrices qui s'installent sur les feuilles, les pousses, et parfois sur les fleurs (Labrie, 2010).

Ils commencent à fonder de nouvelles colonies en produisant des descendants par parthénogenèse. Celles-ci peuvent donner naissance à 10 femelles ou plus par jour (Anonyme, 2009).

Parallèlement, les fondatrices adultes pondent elles-mêmes des larves qui donneront des adultes aptères appelés fondatrigenes (Bahlai *et al.*, 2007).

Plusieurs générations vont se succéder dans lesquelles apparaîtront des ailés qui irons contaminer les différents hôtes secondaires. Par parthénogenèse, les fondatrigenes engendrent un certain nombre de générations des femelles appelées virginogenes. A l'automne, la diminution de la température, de la durée de jour et de la qualité du plant induit le retour des ailés vers leur hôte primaire et l'apparition des femelles capables

d'engendrer des sexués. Ces sexupares produisent des mâles (ce sont des andropares) ou des femelles (gynopares) ou les deux (amphotères) (Labrie, 2010).

Généralement, le mâle est ailé et la femelle aptère. Cette femelle, c'est la seule de toute cette succession de générations et de formes, pond un œuf, l'œuf d'hiver. Ces œufs éclosent au printemps suivant et le cycle recommence (Dewey, 2004) (Fig. 06).

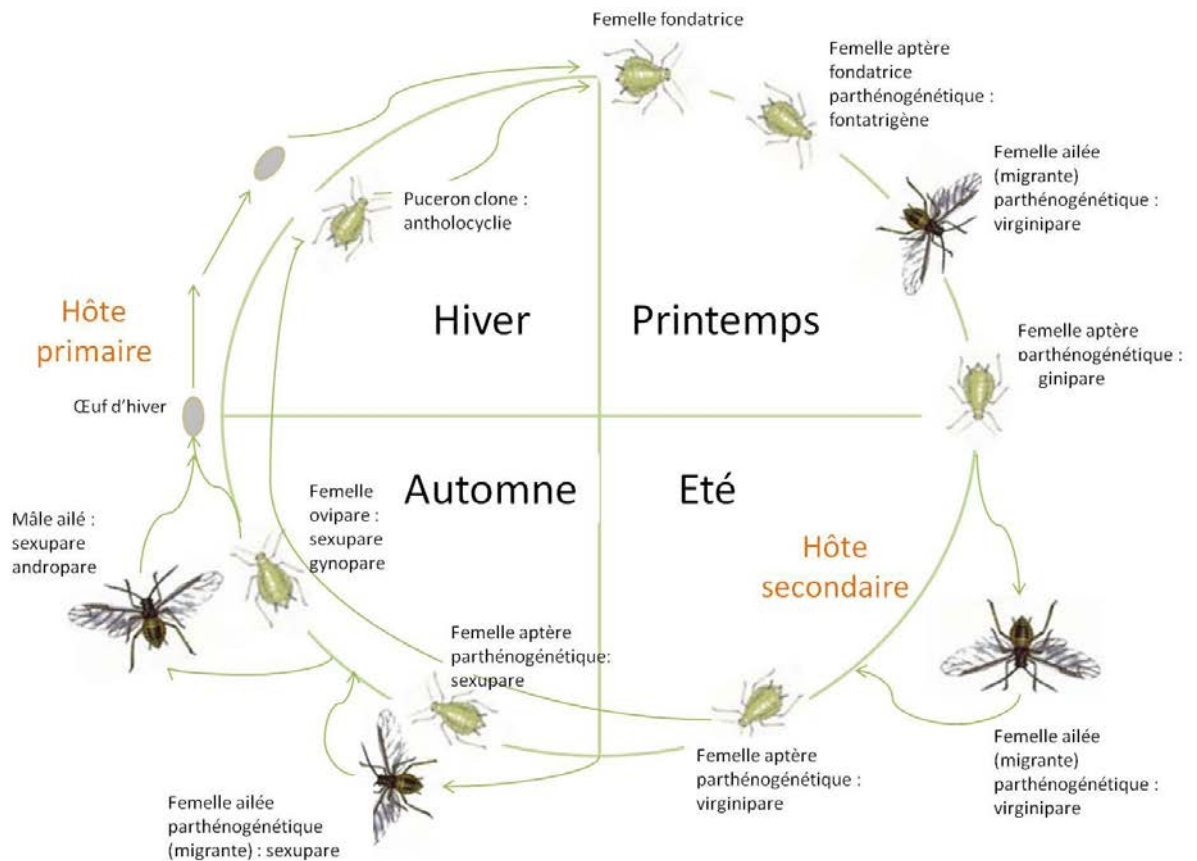


Figure 06 : Représentation schématique du cycle de vie des pucerons(Dewey, 2004)

#### II-4 -Les dégâts causés par les aphides (Christelle, 2007):

Les pucerons sont des parasites majeurs des végétaux dans le monde, avec des conséquences économiques négatives sur l'agriculture, les forêts et l'horticulture, les dégâts que causent les pucerons sont de deux types :

- **Les dégâts directs** : Les piqûres alimentaires sont également irritatives et toxiques pour la plante, induisant l'apparition de galles qui se traduisent par la déformation des feuilles ou des fruits et donc une perte de rendement
- **Les dégâts indirects** : Les dégâts indirects des pucerons sont essentiellement de deux ordres qui sont:

- **Miellat et fumagine** : Les produits non assimilés de la digestion de la sève, riches en sucre, sont éjectés sur la plante sous forme de miellat. Cette substance peut contrarier l'activité photosynthétique de la plante soit directement en bouchant les stomates, soit indirectement en favorisant le développement de champignons saprophytes. Ceux-ci provoquent des fumagines qui entravent la respiration et l'assimilation chlorophyllienne ou souillent les parties consommables (fruits par exemple) et les rendent ainsi impropres à la commercialisation .
- **Transmission des virus phytopathogènes** : En se déplaçant d'une plante à une autre, les pucerons créent des contacts indirects entre les végétaux distants et immobiles. Cette caractéristique a été efficacement exploitée par les virus des plantes, incapables de se déplacer d'un hôte à un autre de façon autonome. Ainsi, de très nombreuses espèces virales utilisent l'action itinérante des pucerons pour se propager et se maintenir dans l'environnement. il existe plusieurs milliers d'associations différentes faisant intervenir une espèce de puceron, un virus et une plante. Chaque espèce de virus ou de puceron possède en effet une gamme de plantes hôtes plus ou moins étendue, ne respectant pas forcément les barrières définies par les familles botaniques .

## II-5-Facteurs de développement et de régression des populations des pucerons :

### - facteurs abiotiques :

- **Les températures** : les insectes étant des poïkilothermes, la température est pour eux le facteur écologique le plus important. La température est un facteur agissant directement sur le développement des aphides.

Ces derniers sont en effet particulièrement adaptés aux régions à hiver froid durant lesquels ils survivent sous forme d'œufs capable de résister à des températures de l'ordre de -10 à -15 °C.

La température minimale de développement de ces insectes est de 4°C en moyenne. En dessous de ce seuil, ils ne se multiplient plus. Entre 4 et 22°C, ils se multiplient d'autant plus vite que la température s'élève. Au-delà de 22°C, qui est leur optimum thermique, leur développement ralentit à nouveau (Hille *et al.*, 1999).

La vitesse de développement des pucerons et leur fécondité dépendent de la température. Une femelle de puceron a besoin en moyenne de 120°C (soit dix jours à 12°C par exemple ou bien six jours à 20°C). La température peut influencer aussi sur le nombre des ailés produits et leur capacité à s'envoler et favorise leur mobilité.

La température ambiante influe sur le vieillissement d'une population de puceron lorsqu'elle dépasse 25°C (Pierre, 2007).

- **Les précipitations** : en milieu aride, les effets des températures sont toujours difficiles à isoler de ceux des précipitations, car ce sont deux facteurs limitant l'activité générale des insectes (Ould El Hadj, 2004).
- **La durée d'insolation** : l'intensité lumineuse agit sur les possibilités d'envol des pucerons et favorise donc la contamination des cultures (Robert, 1982).
- **Le vent** : le vent est un élément qui influence l'envol et la dispersion des insectes, notamment les pucerons et leurs ennemis naturels. Par sa vitesse et sa direction, il détermine la distribution et l'aptitude de déplacement des pucerons, ils peuvent être transportés à de longues distances qui atteignent jusqu'à 150 à 300 km (Robert, 1982).
- **L'humidité de l'air** : Le vol des pucerons est rare lorsque l'humidité relative de l'air est supérieure à 75% combinée avec une température inférieure à 13°C, et il est favorisé à une humidité relative de l'air inférieure à 75% avec une température comprise entre 20 et 30°C (Bonnemaison, 1950).

#### - **Facteurs biotiques :**

##### ➤ **Facteurs de régulation :**

- ❖ **Caractéristiques propres aux individus** : La colonie de pucerons est une ressource localisée et limitée dans l'espace. Sa taille et le nombre d'individus qui la composent ne sont pas fixes, elle varie d'une dizaine à plus d'une centaine d'individus (Agele, 2006).
- ❖ **Facteurs intra spécifiques** : Ces facteurs peuvent réguler eux-mêmes leurs populations par des mécanismes intra-spécifiques de deux ordres : La formation d'ailes; le contact étroit des individus d'une population dense se trouve lorsque les conditions écologiques sont favorables à la pullulation ce qui entraîne des modifications physiologiques sur l'insecte, il provoque l'apparition des formes ailées. La modulation du poids; donc de la fécondité des adultes. Sous l'effet direct de comportements agrégatifs intra-spécifiques et l'effet direct de modification de la composition de la nourriture par les prélèvements de sève. Dans ces conditions, la densité d'une population augmente, le poids et la fécondité des adultes diminuent, retardent ainsi le moment où la plante risque de mourir (Dedryver, 1982).

## **II-6-Rôle de la plante hôte :**

Les pucerons s'attaquent presque à la plupart des jeunes plantes qui sont les plus sensibles à la contamination par les ailés et les aptères ; cette sensibilité diminue quand la plante acquiert une certaine maturité (Fournier, 2010).

## II-7-Rôle des ennemis naturels :

Les pucerons sont attaqués par un large éventail d'ennemis naturels. On distingue les prédateurs, les parasitoïdes et les champignons entomopathogènes (Schmidt *et al.*, 2004).

- ❖ **Les prédateurs** : Ce sont des organismes vivants, libres à l'état adulte et larvaire, s'attaquant à d'autres êtres vivants pour les tuer et se nourrir de leurs substances. Ils dévorent successivement plusieurs proies au cours de leur vie. Ils appartiennent à des groupes taxonomiques divers. Leur spécificité pour certains d'entre eux est très large (Deguine *et al.*, 1997).
- ❖ **Les parasitoïdes** : La nymphose a lieu dans la momie du puceron, puis l'adulte s'en échappe en y forant un trou (Reboulet, 1999).
- ❖ **Les pathogène** : Ce sont essentiellement des champignons phycomycètes appartenant au groupe des entomophthorales, qui sont susceptibles de déclencher des épizooties spectaculaires (Deguine *et al.*, 1997).

## II-8-Lutte contre les pucerons :

Le niveau des populations de pucerons dans les cultures est extrêmement variable d'une année à l'autre et peut évoluer très rapidement au sein d'une même culture. Il dépend bien sûr des capacités reproductives propres aux différentes espèces mais aussi de facteurs extérieurs dépendant de l'environnement physique et biologique. Ces facteurs peuvent être très nombreux, ce qui explique les différences rencontrées dans les tentatives de modélisation de leur influence sur le développement des populations de pucerons (Hulle *et al.*, 1999).

- **Lutte préventive** : Elle se base sur les différentes pratiques culturales et l'entretien de la culture car l'enfouissement pendant l'hiver des plantes ayant reçu des œufs d'hiver ainsi que la destruction par des hersages ou sarclages des plantes sauvages susceptibles d'héberger des espèces nuisibles aux plantes cultivées au début du printemps (Wang *et al.*, 2000).
- **Lutte curative** :
- ❖ **Lutte chimique** : Pour réduire les dégâts d'insectes, l'utilisation des pesticides reste le moyen le plus largement utilisé et le plus efficace aujourd'hui (Ferrero, 2009).

Les principes de la lutte chimique sont: L'empêchement d'acquisition du virus lors de piqûres d'essai par l'utilisation d'huiles végétales non phytotoxiques. Le choix des produits: ils doivent être avant tout sélectifs afin de préserver la faune utile. Ces produits doivent aussi être dotés d'un effet de choc élevé, et d'une bonne rémanence, en plus ils doivent appartenir à des familles chimiques différentes afin d'éviter ou de retarder le

phénomène de résistance. Il est de préférence que le choix porte sur des produits systémiques qui touchent même les pucerons protégés par l'enroulement des feuilles (Hulle *et al.*, 1999).

- ❖ **Lutte biotechnique** : Ce moyen de lutte est basé sur le comportement de certains insectes qui sont attirés par différents attractifs visuels (couleur) ou olfactifs (aliments, phéromones). Ces couleurs et ces substances peuvent être utilisés pour le piégeage de masse, le piégeage d'avertissement ou des traitements par tâches (Ryckewaert *et al.*, 2001).
- ❖ **La lutte biologique** : la lutte biologique est l'utilisation des organismes vivants (insectes, bactéries, nématodes,...) ou de leurs dérivés pour contrôler les populations de nuisibles et empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés aux cultures (Lambert., 2005).

### III-Les extraits méthanoïque :

#### Généralité sur les polyphénols :

Les polyphénols constituent un groupes largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante, ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales, la voie de shikimate et d'acétate (Hopkins, 2003) .

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Bruneton, 1993).

#### III-1-Biosynthèse des composés phénoliques :

**III-1-1-La voie de shikimate** : c'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Fig. 07) (Kenning *et al.*, 1995)

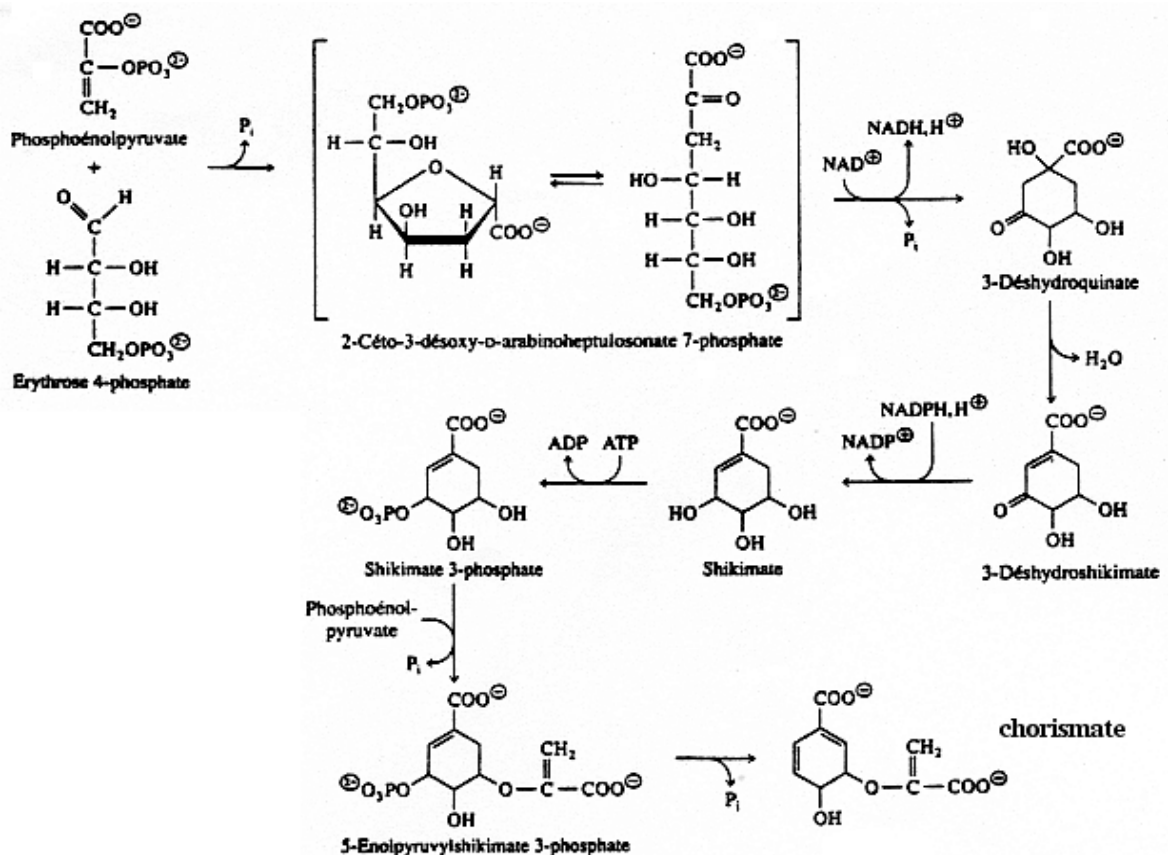


Figure 07: Biosynthèse des composés phénoliques par voie de shikimate(Kenning *et al.*, 1995).

### III-1-2-La voie de phénylpropanoïde :

Les phénylpropanoïdes sont des composés aromatiques en C<sub>6</sub>C<sub>3</sub> synthétisés par les plantes supérieures, et dérivant de la phénylalanine. On distingue parmi eux les dérivés directs - comme le cinnamate, l'acide caféique ou encore le safrole - en général contenus dans les huiles essentielles mais présents aussi dans différents tissus où ils jouent souvent un rôle antioxydant, les dérivés par estérification – comme l'acide chlorogénique les dérivés par cyclisation d'hydroxycinnamates - les coumarines et les furocoumarines -, et les polymères de monolignols qui forment les lignanes et la lignine (Guignard, 2000).

### III-1-3-La voie de biosynthèse des flavonoïdes :

Les flavonoïdes font partie de la large famille des polyphénols, composés largement distribués dans le règne végétal. Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), en coumarines, en naphthoquinones, en stilbénoides (deux cycles C<sub>6</sub> liés par 2C) (Fig. 08), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et néoflavonoïdes et en formes polymérisées (lignanes, lignines, tanins condensés) (Fig. 09) (Dacosta, 2003).

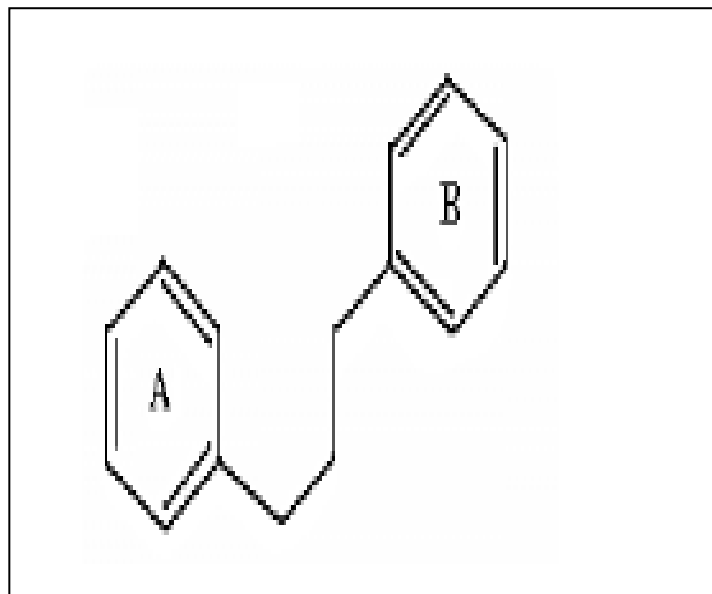


Figure 08 : Squelette de base des flavonoïdes (Teutter, 2006)

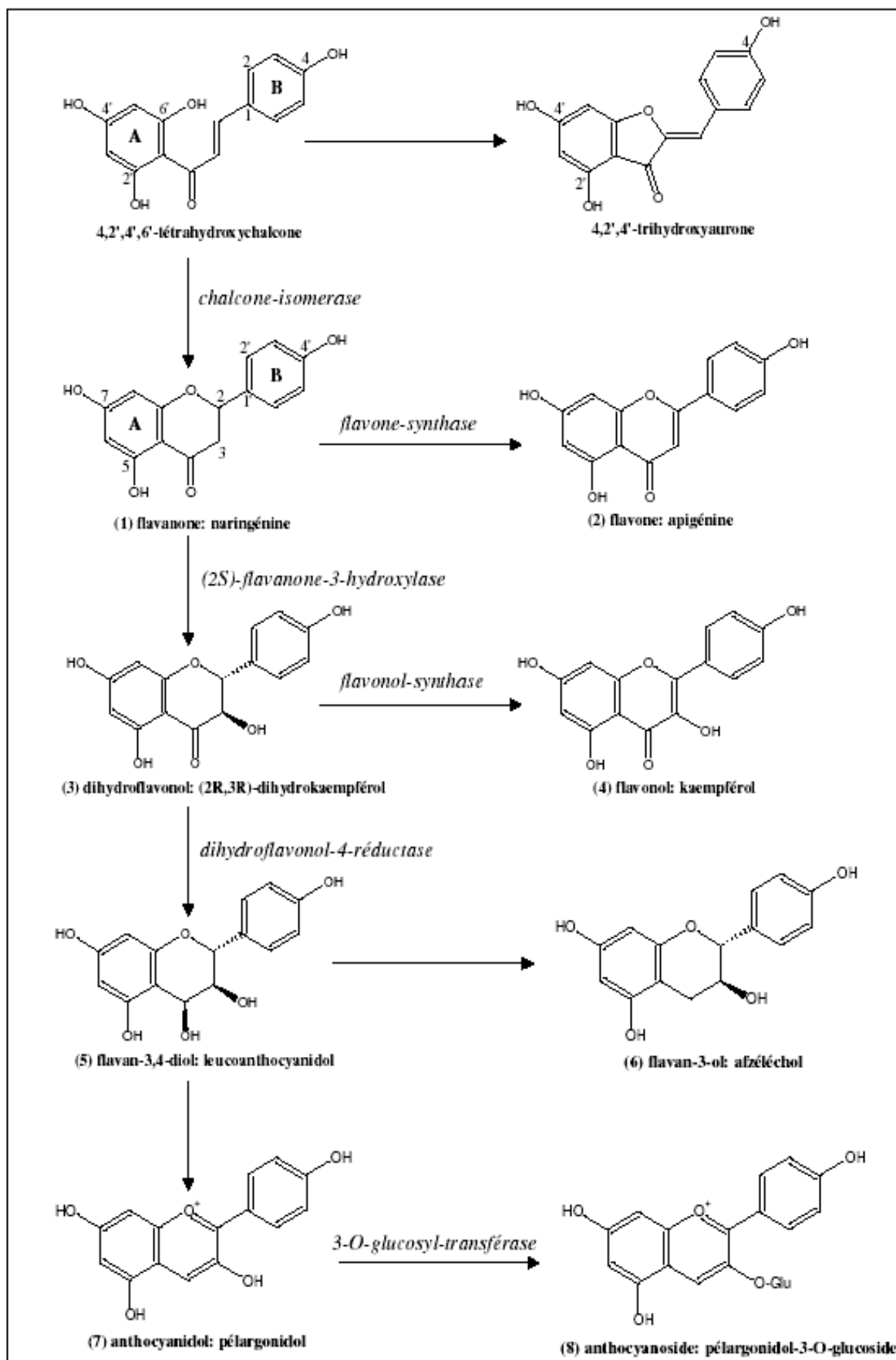


Figure 09: Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

## III-2-Principale classe :

### III-2-1-Les composées phénoliques :

Les composés phénoliques, également dénommés polyphénols sont des molécules spécifiques du règne végétal. Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés (Bahorun, 1997).

Il existe plusieurs classifications des composés phénoliques. On répartit généralement les composés phénoliques en plusieurs classes (Fig. 10) (Dacosta, 2003).

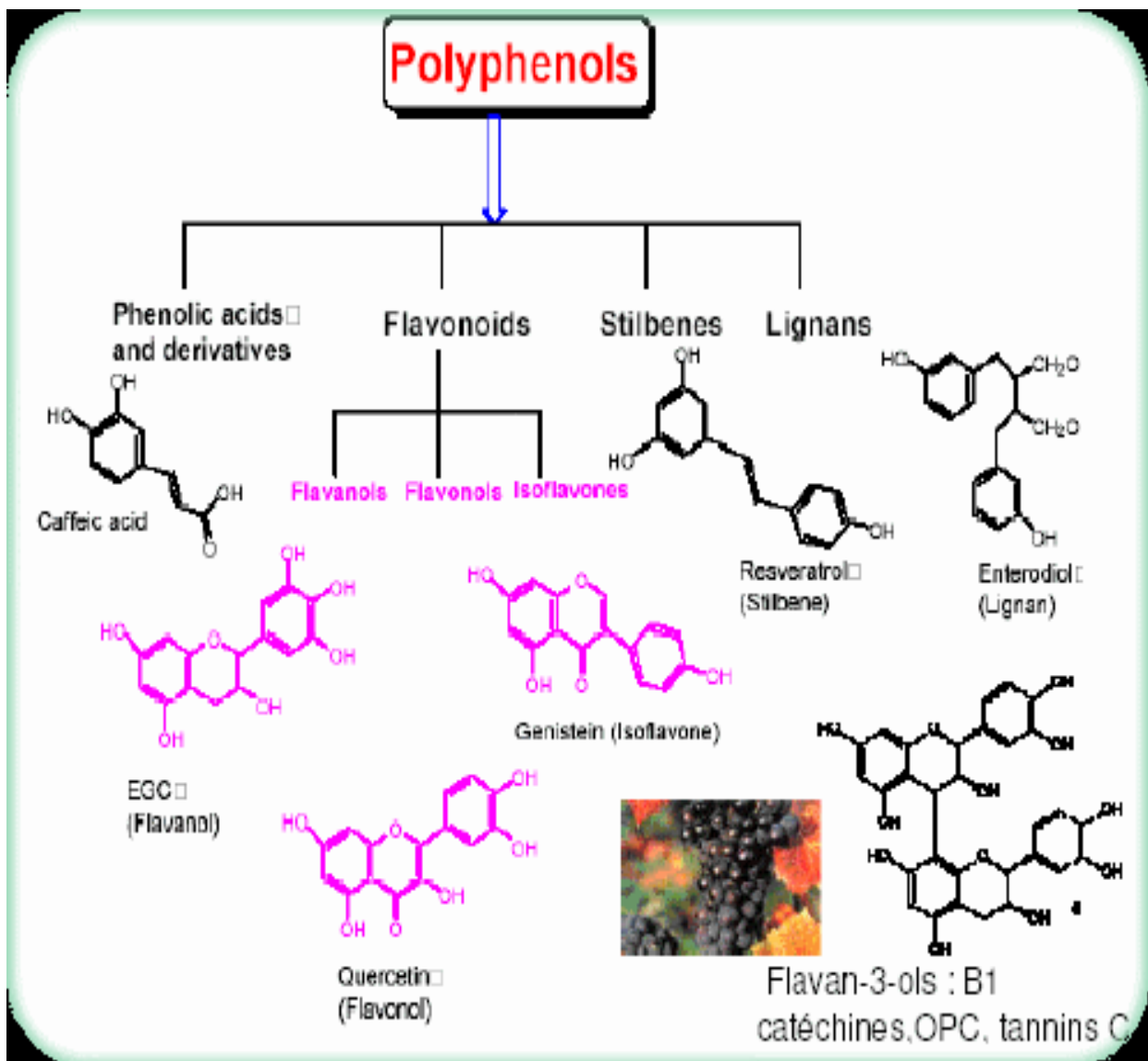
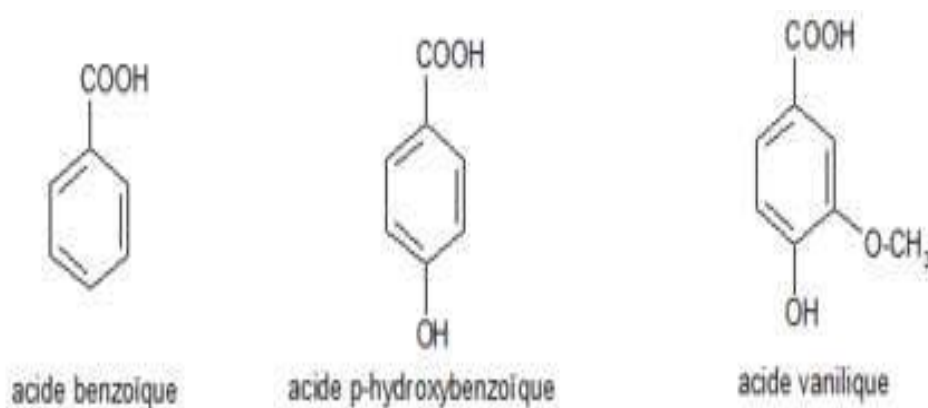


Figure 10 : Les classes des composées phénoliques (Wikipidea)

- **Les acides phénoliques** : Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque ou de l'acide cinnamique :
- ❖ Les dérivés de l'acide benzoïque sont (Fig. 11) :

- L'acide hydroxybenzoïque
- L'acide vanillique
- l'acide syringique
- l'acide dihydroxybenzoïque
- l'acide gallique
- l'acide ellagique obtenu par oxydation de l'acide gallique.



**Figure11 : Structures chimiques de quelques exemples dérivés de l'acide benzoïque (Dacosta 2003).**

❖ les dérivés de l'acide cinnamique sont :

- L'acide coumarique
- L'acide férulique
- L'acide sinapique
- L'acide caféique (Fig. 12).

La liste des acides phénoliques présents dans les plantes ne s'arrête pas là, nous tenons à mentionner en particulier : l'acide méthylgallique, l'acide chlorogénique et l'acide Rosmarinique (Dacosta, 2003).

Les acides phénoliques comportent un radical COOH. Ils se trouvent souvent sous la forme de glycosides ou d'esters.

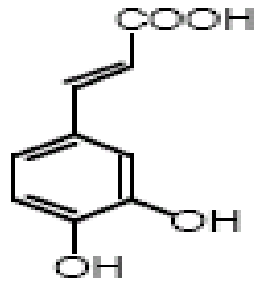


Figure12 : Structure de l'acide caféique (Krief, 2003)

### III-2-2-Les flavonoïdes (Milane, 2004):

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux.

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane de base.

Structuralement, les flavonoïdes ont un squelette de base commun constitué de 15 atomes de carbone assemblés en trois cycles nommés A, C et B. Selon la structure du cycle intermédiaire (cycle C), les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (Fig. 13) :

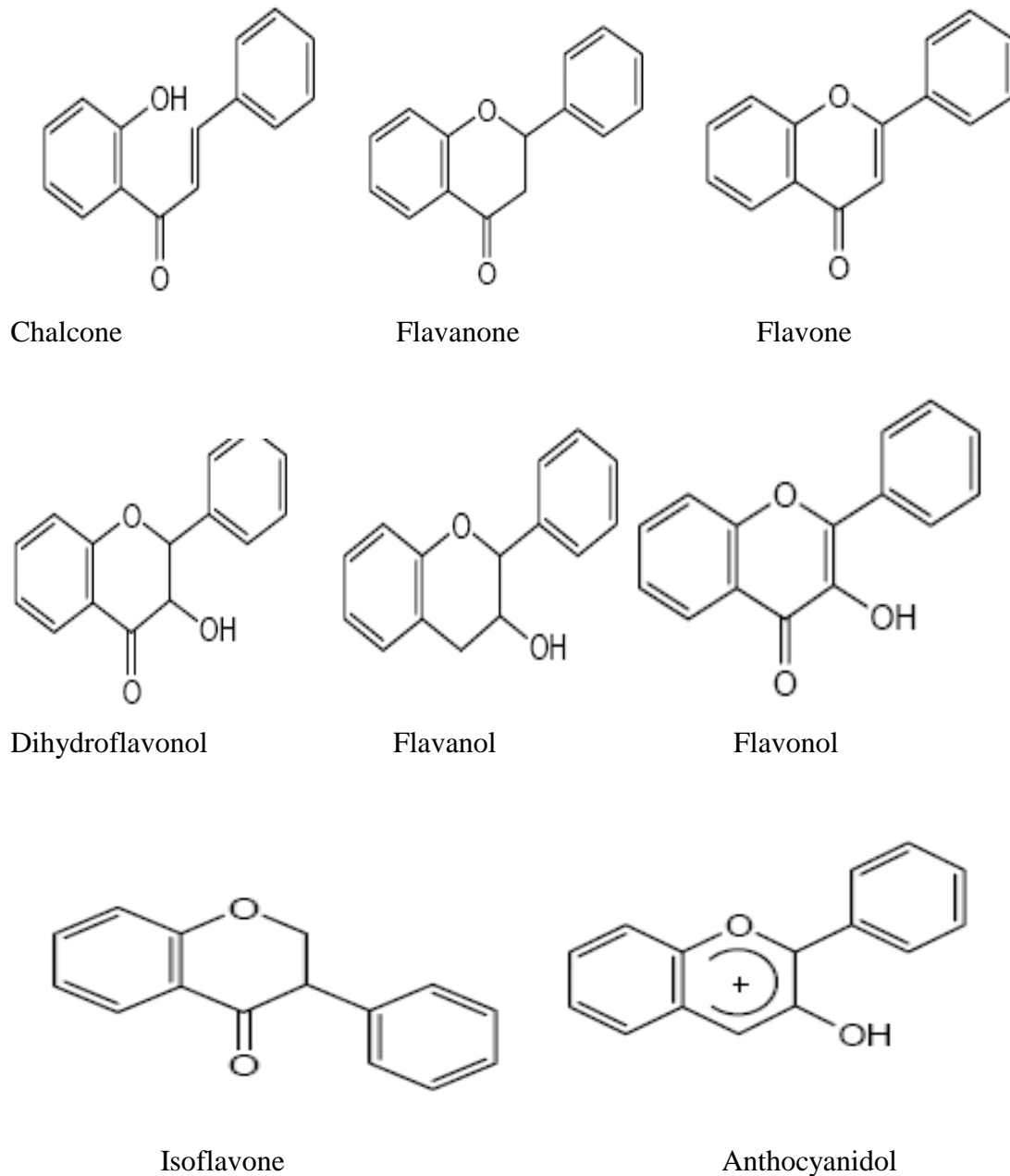


Figure 13 : Squelette de base des sous classes de flavonoïdes (Fiorucci 2006)

### III-2-3-Les tanins :

Les tanins sont des polyphénols qu'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé. Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et les solvants polaires (Hagerman, 2002).

Les tanins ont la propriété de tanner la peau. C'est à dire de la rendre imputrescible ; cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) (Ghestem *et al.*, 2001).

Ils présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

- **Les tanins hydrolysables** : Ce sont des esters du glucose (ou de molécules apparentées) et d'acides phénols qui sont :
  - ❖ Soit l'acide gallique, on parle alors de tanins galliques
  - ❖ Soit l'acide ellagique, qui est un dimère de l'acide gallique, on parle alors de tanins ellagiques.

Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide gallique (Ghestem *et al.*, 2001).

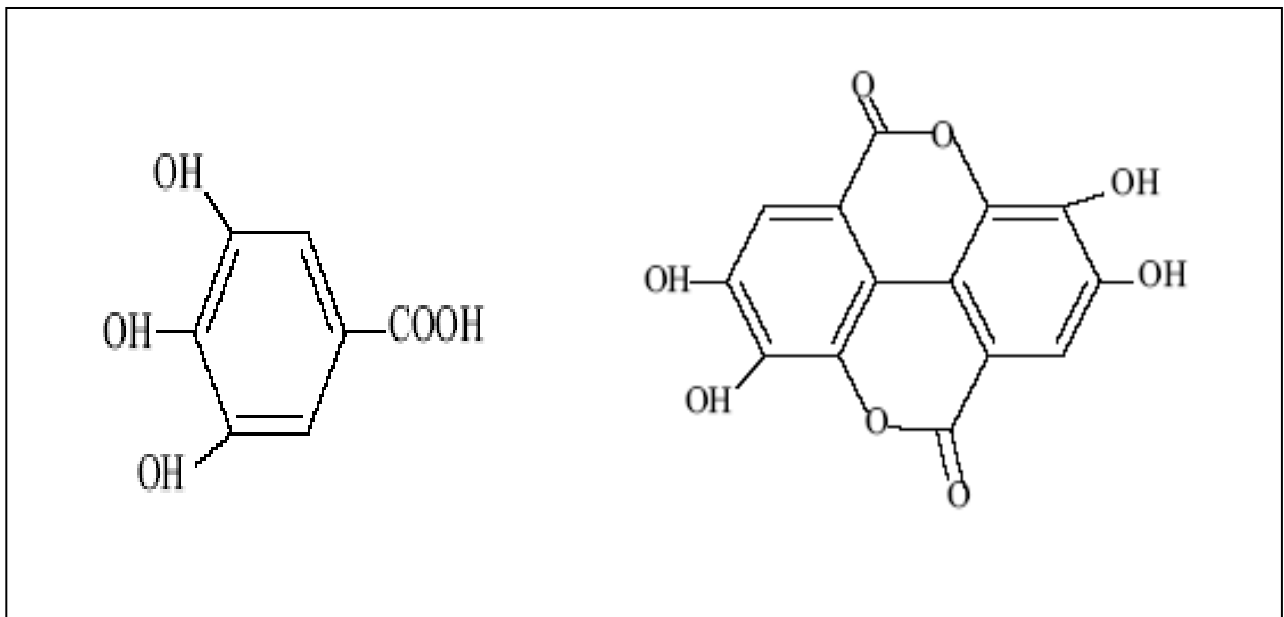


Figure 14 : Structure de l'acide gallique (1) et ellagique (2) (Packer, 2001)

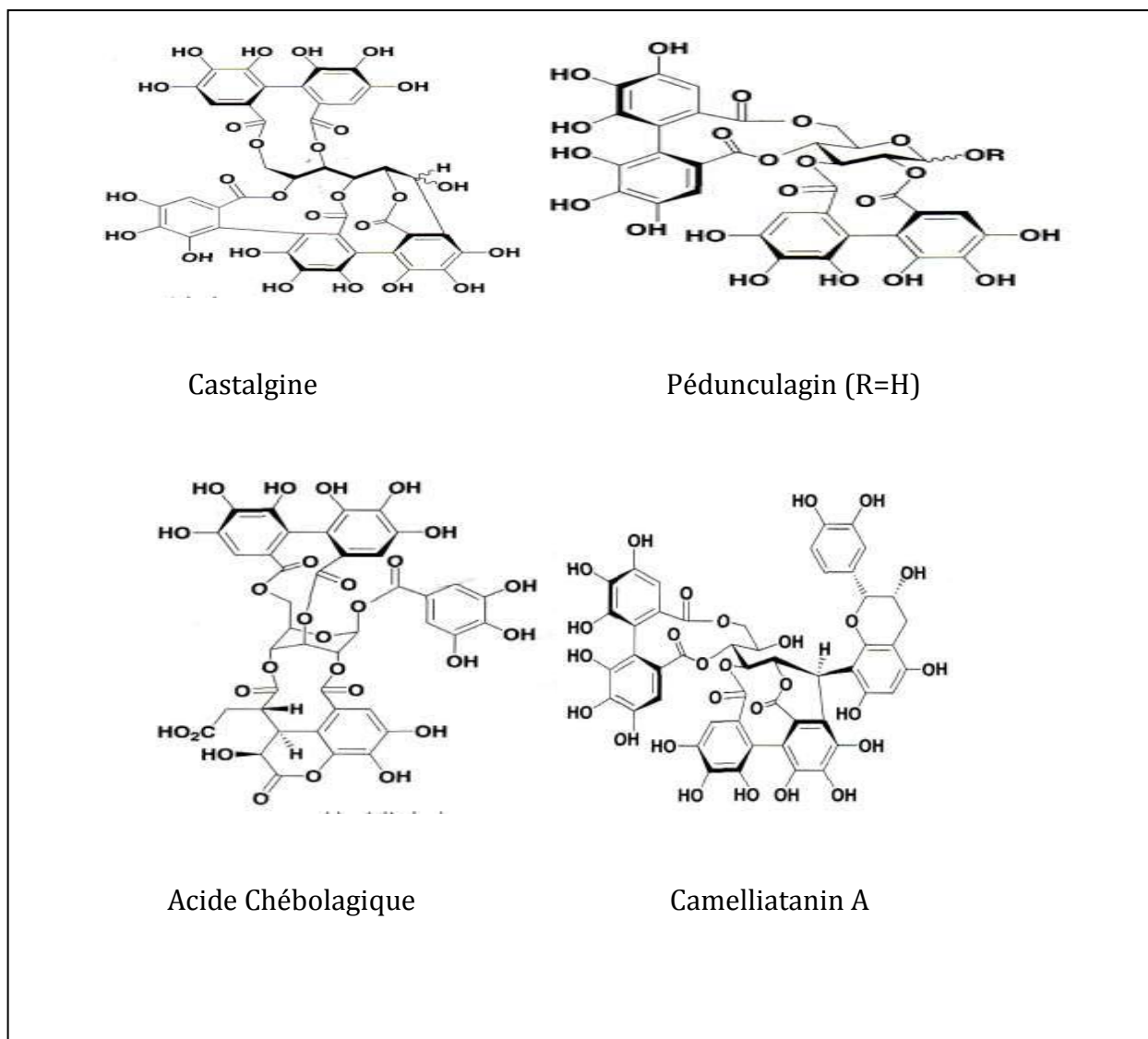


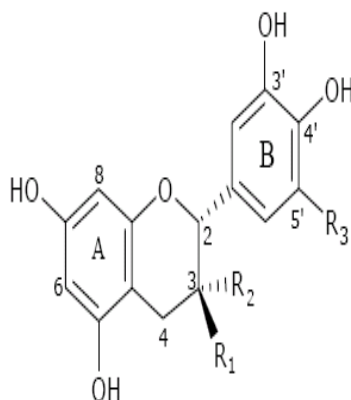
Figure15 : Structure de tanins hydrolysables (Hartzfeld *et al.*, 2002)

- **Tanins condensés** : Des termes variés ont été utilisés dans la littérature pour décrire les tanins condensés, notamment : proanthocyanidines, tanins condensés, flavanes, polyflavanes, catechines, substances polyphénoliques macromoléculaires, leucoanthocyanidines, proanthocyanidines condensés, proanthocyanidines polymériques, proanthocyanidines oligomériques, procyanidines, et oligomères procyanidoliques, (Khanbabae *et al.*, 2001).

Les polymères de tanins condensés se forment sous l'action d'acides ou d'enzymes, ils sont formés généralement de 2 à plus de 10 sous unités monomériques (Vermerris *et al.*, 2006). Les tanins condensés ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide, à chaud, par rupture de la liaison intermonomérique (Porter *et al.*, 1986).

Les différentes classes de proanthocyanidines sont : Proapigeninidines, profisetinidines, protricetinidines, propelargonidines, procyanidines, prorobinetinidines, prodelpinidines, proteracacinidines, promelacacinidines, Proluteolinidines, proguibourtinidines.

Les proanthocyanidines se distinguent par leur nombre d'unités monomériques et le type de liaison les reliant entre elles. Ainsi, une trentaine de proanthocyanidines dimériques, trimériques et tétramériques ont déjà été identifiées (Ricardo-Da-Silva *et al.*, 1991).



Flavanols	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
(+)-catéchine	H	OH	H
(-)-épicatéchine	H	H	OH
(+)-gallocatechine	OH	OH	H
(-)-épigallocatechine	OH	H	OH

**Tableau 01: Structures chimiques des unités monomériques constitutives des tanins condensés (Perret, 2001)**

Une troisième classe de tanins a été décrite par certains auteurs ce sont :

- **Les phlorotanins** : Les phlorotanins se trouvent dans les algues brunes, ils ne possèdent pas les groupes ortho-phénoliques typiques des tanins condensés et hydrolysables (Hagerman, 2002).
- **Les stilbènes** : Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (Perret, 2001) ; contrairement aux flavonoïdes, ces composés sont peu répandus chez les végétaux; le raisin et le vin rouge constituent l'apport alimentaire le plus important de ceux-ci (Krisa *et al.*, 1997).

- **Les lignanes** : Les lignanes sont des composés dont les deux noyaux phénoliques sont reliés par quatre atomes de carbone, au lieu de trois dans les flavonoïdes. Les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes (Krief, 2003). Les graines de lin sont la source la plus importante de lignanes viennent ensuite : les lentilles, les haricots blancs, les graines de céréales et certains légumes (Stark *et al.*, 2002).

### III-3-Activités biologiques des polyphénols :

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques intervenant dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures mécaniques. La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Bahorun, 1997).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux (Babar *et al.*, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs (Falleh *et al.*, 2008) et antioxydants (Gomez *et al.*, 2006).

**Tableau 02 : Activités biologiques de quelques composés phénoliques (Bruneton, 1999)**

Composé phénoliques	Activité biologiques
Acides phénols	Antifongiques, antibactériennes, antioxydants
Tanins	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, anti diarrhéique, effet vasoconstricteur.
Flavonoïdes	Antitumorale, anticarcinogène, anti-inflammatoire, antioxydant, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique.
Coumarines	Anticoagulante, anti-oxydante, protectrice vasculaire et anti-œdémateuse.
Anthocyanes	Protectrice capillaro-veineux, antioxydants, anti-tumoraux, antifongiques, et anti-inflammatoire.
Protho- cyanidine	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, anti-tumoraux, antifongiques et anti-inflammatoire.
Tanins galliques et catachétiques	Anti-oxydantes
Lignanes	Anti-inflammatoire, analgésiques.



## I-L'objectif :

L'étude du pouvoir insecticide des extraits méthanoïques de *P. lentiscus* selon la méthode du Soxhlet dans un solvant extractant principalement d'extrait hydroalcoolique.

## II-La structure de stage :

Notre stage a été réalisé dans le laboratoire de recherche Protection des végétaux et le laboratoire pédagogique de Biochimie de l'université de Mostaganem.

## III-Matériel et méthode :

### III-1-Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans notre expérimentation est constitué des feuilles de lentisque (*P. lentiscus*) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, et très odorante.

Les feuilles prélevées tôt le matin du jardin de l'université ITA de Mostaganem sont placées dans des sacs en plastic puis transportées immédiatement au laboratoire de protection des végétaux de l'université de Mostaganem en vue du séchage et des analyses.

Les feuilles sont soumises à un rinçage à l'eau de robinet pour éliminer les impuretés puis étendues en couches minces, à bonne aération pendant une semaine.

Une fois séchées, les feuilles sont soumises à un broyage manuel afin d'obtenir une poudre prête à l'emploi. La drogue obtenue est conservée dans des flacons en verre ambré en vue des expérimentations.



Figure 16: Feuilles de *P. lentiscus* au laboratoire avant le séchage (original).

### III-2-matériel animal :

#### Les pucerons utilisés :

- *Toxoptera aurantii* (puceron noir des agrumes)

est une espèce d'insectes hémiptères de la famille des Aphididae.,

Ce puceron polyphage est un ravageur de diverses cultures tropicales, telle que les agrumes (*Citrus*). Les dégâts directs provoqués par le prélèvement de la sève des feuilles et des jeunes pousses entraînent l'affaiblissement des plantes et s'accompagnent de dégât indirect dus à l'excrétion de miellat suivi de la formation de fumagine.

Le puceron a été récolté sur des arbres d'agrumes (Bigaradier) poussant dans la cour du site III (Ex. ITA) de l'université de Mostaganem(fig 17) .

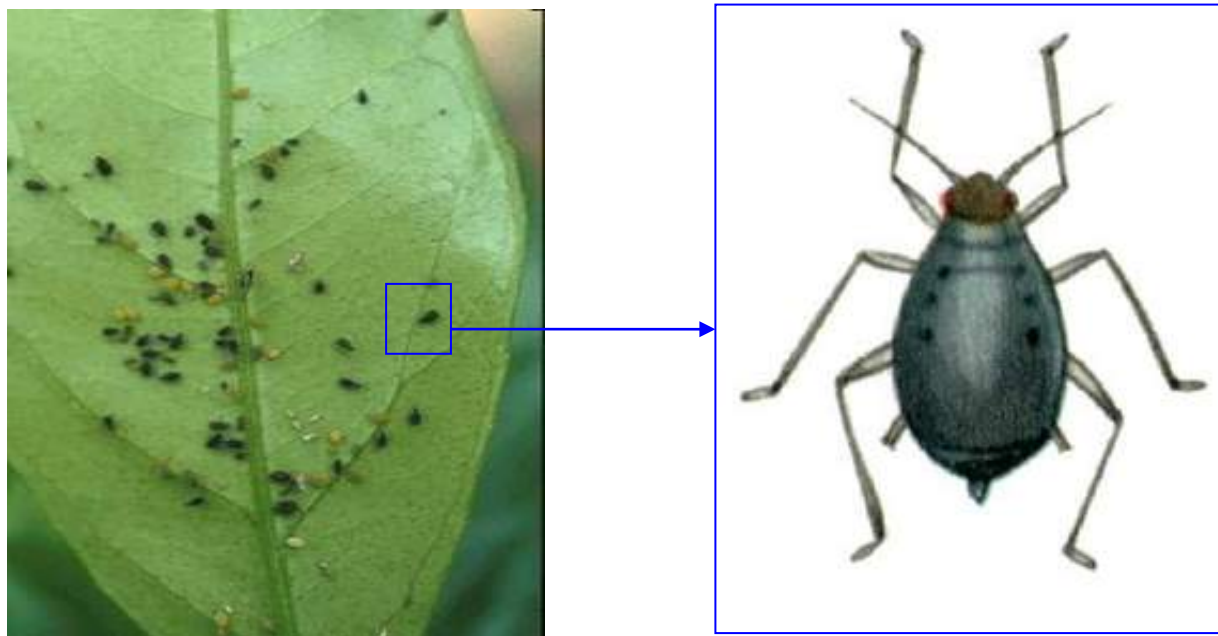


Figure 17 : *Toxoptera aurantii* utilisé(Wikipidea) .

### IV-Procédé d'extraction

#### IV-1-Extraction par soxhlet :

Nous avons utilisé cette méthode d'extraction pour l'extraction d'importante quantité de poudre sèche de *P. lentiscus* en vue du fractionnement phytochimique.

- L'extracteur de Soxhlet permet le traitement de solides (matériel végétal), avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés.

- Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmonté d'un réfrigérant.
- Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal.
- La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté (Houghton *et al.*, 1998)

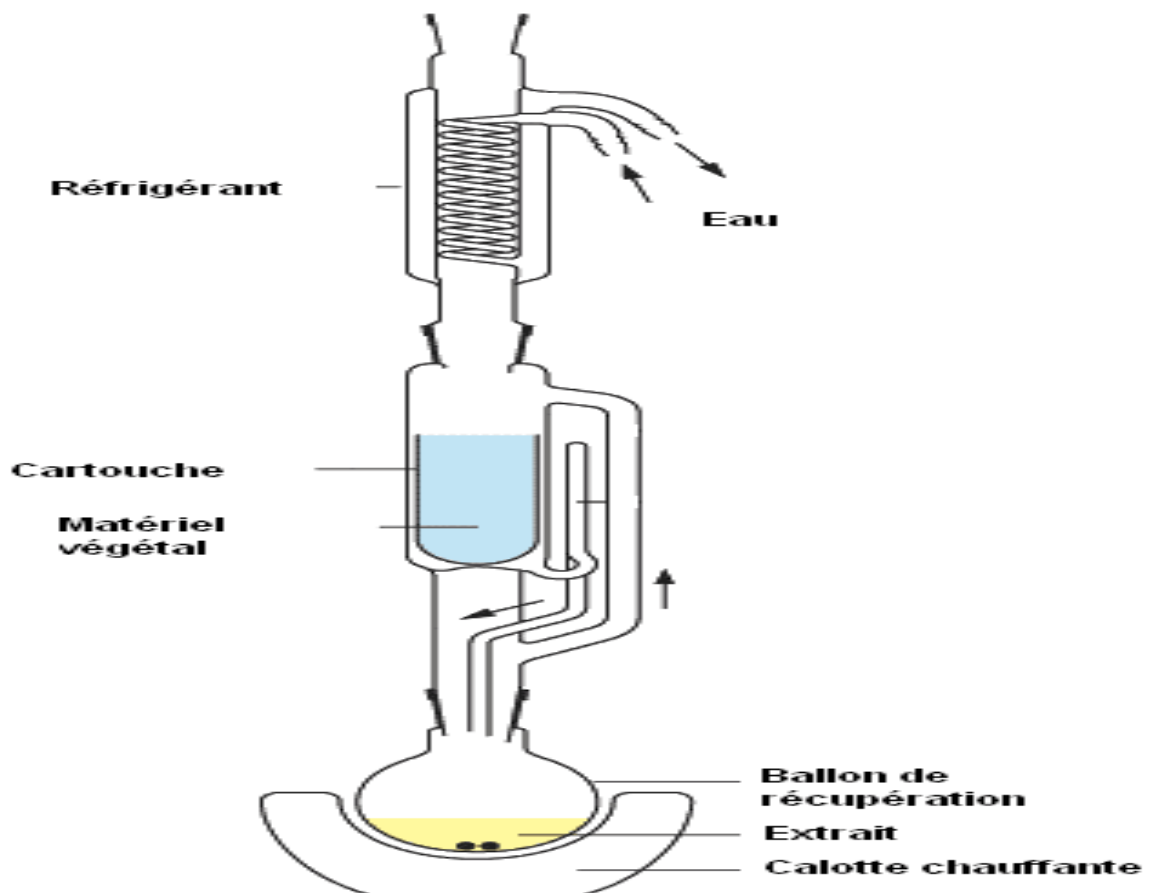
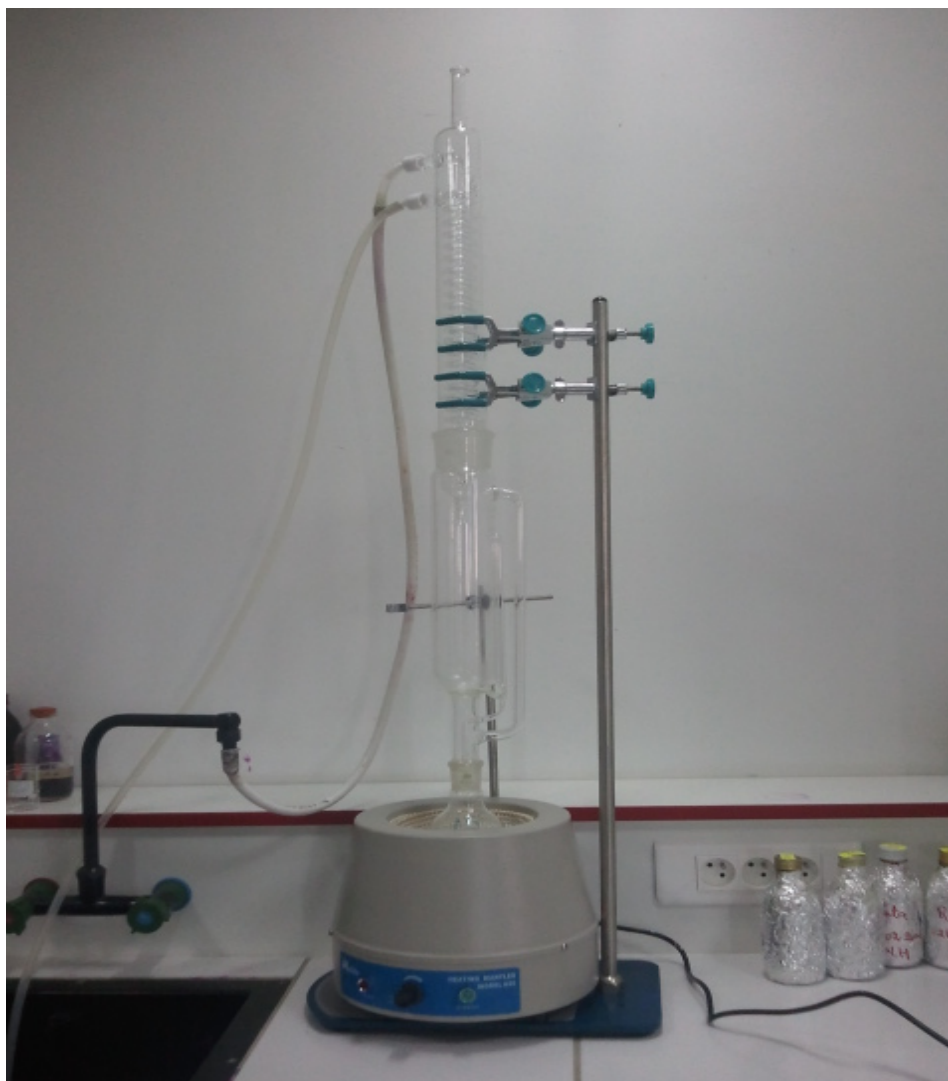


Figure 18 : dispositif d'extraction par Soxhlet (Wikipidea)



**Figure 19 : montage technique d'extraction par Soxhlet (Originale, 2016)**

#### **IV-2-Techniques utilisées :**

-1-Un échantillon de 8g de poudre est placé dans un récipient contenant 40 ml d'éther de pétrole, laissé sous agitation à une température ambiante.

-2-La poudre sèche est ensuite transférée dans une cartouche en papier filtre épais pour enfin être placée dans le réservoir de l'extracteur Soxhlet.

-3-Après plusieurs cycles successifs d'extraction en continu (cycles), le solvant (400ml de méthanol) contenant la matière à extraire retourne dans le ballon par déversement à travers le siphon situé dans le coude latéral.

### IV-3-Evaporation du solvant d'extraction :

-1-L'extrait récupéré éliminer par évaporation à sec à une température de 60°C à l'aide d'un rotavapor.

-2- L'opération est répétée plusieurs fois.

-3- l'extrait obtenu est conservé à 4°C et à l'obscurité.



Figure 20 : L'évaporation rotatif (BUCH R-210 Originale, 2016)

### V-1-Le rendement d'extraction

Selon Clémonce et Dongmo (2009), le rendement exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériels de départ est déterminé par la relation suivante :

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

- R : rendement (en %) .
- $M_{\text{ext}}$  : est la masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en g.
- $M_{\text{éch}}$  ; est la masse de l'échantillon végétal en g.

### V-2-Mesure de l'activité insecticide

- **Préparation des dilutions de l'extrait méthanoïques des feuilles de *P. lentiscus***

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

- On introduit 1ml d'extrait dans un tube à essai contenant 9ml ED (concentration de 10%).
- On introduit 2ml d'extrait dans un tube à essai contenant 8ml ED (concentration de 20%).
- On introduit 3ml d'extrait dans un tube à essai contenant 7ml ED (concentration de 30%).

Pour le témoin on utilise seulement l'eau distillée.

- **Préparation des tests par l'extrait méthanoïque :**

- Pour cet essai, les pucerons sont ensuite placés dans des boîtes de Pétri sur les feuilles de citron ; en vue d'évaluer l'effet insecticide de nos extrait méthanoïques aux différentes dilutions (10%,20%,30%).
- Dans les boîtes de Pétri le test consiste à continuer d'élever les insectes sur les fragments de feuille d'agrumes (Bigaradier), sur chacune des feuilles préalablement imprégnées par pulvérisation avec une solution d'extrait méthanoïque de *P. lentiscus* aux diverses concentrations à tester en présence du témoin qui ne reçoit que l'eau distillée, les pucerons sont déposées sur les boîtes de Pétri fermées avec un parafilm sur les bordures.
- Les pucerons sont observés sur les feuilles de bigaradier, une première fois sous loupe binoculaire après une période de contact de 24 heures et ensuite des observations sont effectuées à la même heure 48, 72 heures et une semaine afin de déterminer la mortalité éventuelle des aphides.

### **-VI-1-Evaluation de la bio-activité :**

Les tests ainsi préparés avec l'extrait méthanoïques de *P. lentiscus* aux différentes concentrations sont maintenus sur la paille à température ambiante sous la lumière artificielle et naturelle dans les conditions du laboratoire.

Le protocole expérimental a été complètement randomisé avec quatre traitements (trois concentrations d'extrait méthanoïque et le témoin).

Le nombre d'échantillon trois insectes par chaque boîte, cinq boîtes par chaque traitement, un total égal 15 individus sur l'ensemble de l'essai.

## Détermination du taux de mortalité

Selon Benazzedine (2010), l'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'Abott :

$$MC \% = (M - M_t \times 100) / (100 - M_t)$$

MC : la mortalité corrigée

M : pourcentage de morts dans la population traitée

M<sub>t</sub> : pourcentage de morts dans la population témoin

## VI-2-Détermination des doses létales 50 et 90

La DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> sont dans leur forme la plus simple, les doses d'un composé qui provoquent une mortalité de 50 et 90% dans une population d'insectes mis en présence.

C'est-à-dire ayant reçu une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien : mort ou survie des insectes. Le protocole expérimental consiste à expérimenter 3 traitements de 20 pucerons auxquels sont administrées des doses croissantes de la substance à essayer de manière que le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100% (Wallace, 2008).

L'efficacité d'un toxique entraînant la mort de 50% d'individus d'un même lot respectivement ; elles sont déduites à partir du tracé des droites de régressions des mortalités corrigées (Benazzedine, 2010).

## VI-3-Différentes méthodes de détermination de la DL<sub>50</sub>

Pour déterminer l'efficacité des résultats obtenus pour les tests insecticides, des analyses statistiques à deux critères de classification ont été effectuées avec le nombre d'insectes morts en fonction des concentrations et des traitements.

Les données recueillies à partir de quatre répétitions de chaque expérience ont été analysées statistiquement à l'aide de logiciel Statbox pour Microsoft Excel 2003. Les analyses réalisées sont la variance (ANOVA) et le test de NEWMAN-KEULS avec un seuil de signification (P=5%) pour déterminer la relation entre les extraits végétaux et les concentrations utilisées.

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

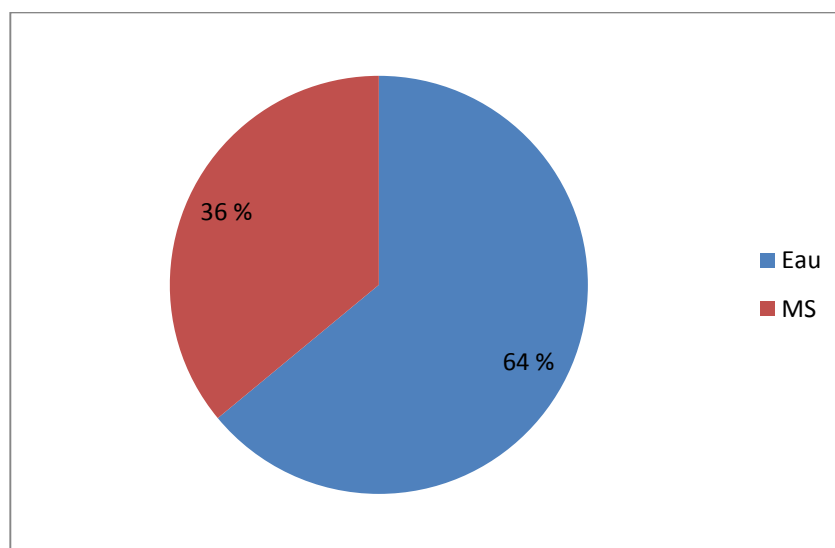
- 0\*\*\*\* : hautement significatif
- 0,001\*\* : très significatif
- 0,01\* : significatif
- 0,05 : moyennement significatif
- 0,1 : peu significatif

## Résultat et discussion

### I -Le taux d'humidité :

L'eau est indispensable à la plante comme à tout être vivant, elle assure la rigidité des tissus par sa pression cellulosique, 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 organe (ouverture des pétales, des feuilles, d'étamines et des stomates), elle est considérée comme un milieu cellulaire, un véhicule des substance nutritive et elle constitue les réactions biochimiques (Soltner, 2001).

Le taux d'humidité dans les feuilles du *P. lentiscus* est de 36%. Cette détermination permet d'éliminer le pourcentage de l'eau dans les calculs du rendement d'extraction (Fig. 20).



**Figure 21 : le taux d'humidité de *P. lentiscus***

### II- L'extraction :

L'extraction Soxhlet c'est une macération à chaud continue, cette technique permet l'équipement total des principes actifs dans le solvant d'extraction durant plusieurs cycles. Le premier cycle dure 65 minutes et les cycles suivants de 30 à 45 minutes. Chaque extraction contenant de 5 à 8 cycles d'une durée de 3 à 5 heures.

### III-Rendement 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 cycle nécessaire, le débit de condensation, le rapport solvant/matière végétale et le taux de remplissage de la cartouche,

R(%)=45,17%
-------------

ainsi que la nature du solvant (Luque *et al.*, 1998). Le rendement d'extraction pour *P. lentiscus* obtenue par la méthode de Clémence et Dongmo (2009) est le suivant :

L'extrait obtenu après l'extraction des feuilles des plantes étudiées par la méthode Soxhlet sont des extraits méthanoïques de couleur marron foncé pour notre plante *P. lentiscus*. Cette variation de couleur dépend de la composition chimique et le principe actif de la plante.

#### **IV-Influence du solvant d'extraction sur le rendement :**

Le solvant d'extraction utilisé dans ce travail est en accord avec le choix de Ait Taadoui *et al.* (2011), qui expliquent l'utilisation du méthanol comme solvant d'extraction.

Selon la littérature, le méthanol a été recommandé et fréquemment employé pour l'extraction de principe actif surtout les composés phénoliques. 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 oxydés par enzymes (Fellah *et al.*, 2008).

En effet, l'extrait méthanoïque contient des glucosides, des polyphénols (flavonoïdes et tanins), des alcaloïdes et des saponosides. Les effets insecticides de ces constituants sont mentionnés par plusieurs auteurs. Les tanins possèdent des propriétés insecticides (Zhang *et al.*, 1990), ils influencent la croissance, le développement et la fécondité de plusieurs insectes ravageurs (Stamp 2003). Les alcaloïdes induisent des effets toxiques vis-à-vis des insectes (Bouchelta *et al.*, 2005). Les glucosinolates et les alcaloïdes ont des effets toxiques, attractifs et/ou phagostimulants selon l'espèce d'insecte concernée (Tabashnik et Slansky, 1987).

Les résultats trouvés par Barbouche *et al.* (2001) confirment que les biotests réalisés avec l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* ont donné 100% de mortalité des adultes des *Toxoptera aurantii* dans un délai de 07 jours. Aussi Kemassi *et al.* (2001) signalent un taux de mortalité de 100 % chez les adultes de *Toxoptera aurantii* 07 jours après un traitement par l'extrait de *P. lentiscus*.

#### **V-L'activité insecticide de *P. lentiscus* sur *T.aurantii* :**

A l'instar de plusieurs plantes, *P. lentiscus* possède des potentialités insecticides à l'égard de *Toxoptera aurantii*. Son effet toxique provoque une mortalité plus ou moins importante. La toxicité de l'extrait est d'autant plus élevée que les doses sont importantes. En effet, l'étude de l'action de l'extrait méthanoïque de *P. lentiscus* sur les individus de *Toxoptera aurantii* montre que son action est très rapide aux fortes doses avec un taux de mortalité de 100 % obtenu au bout de 3 jours pour la forte dose de 30% et après une semaine pour la faible dose de 10% (Tab. 05).

L'utilisation d'extrait des plantes comme insecticide est connue depuis longtemps. En effet, le pyrèthre, la nicotine, la roténone ont déjà été utilisés comme agents de la lutte contre les insectes (Crosby, 1966).

Les pucerons sont exposés à différents traitements d'extrait végétal (extrait méthanoïque du *P. lentiscus*), le suivi des résultats a été fait à 24 heures, 48 heures et 72 heures et finalement une semaine.

La mortalité des pucerons a été observée après les premières 24 heures dans toutes les concentrations des extraits, en revanche la mortalité dans le témoin négatif a débuté après 48 heures du traitement et après 72 heures pour les concentrations.

Le tableau 05 présente le résultat de mortalité des pucerons au cours de la durée de traitement :

**Tableau 05 : Mortalité des pucerons selon la période de traitement**

Les concentrations (%)	Les boîtes	24heures	48heures	72heures	une semaine
10%	Boîte 01	-	+	++	+++
	Boîte 02	+	-	+++	+++
	Boîte 03	-	+	++	+++
20%	Boîte 01	-	+	+++	+++
	Boîte 02	+	++	++	+++
	Boîte 03	+	-	+++	+++
30%	Boîte 01	+	+	+++	+++
	Boîte 02	++	+	+++	+++
	Boîte 03	-	++	+++	+++
Témoin	Boîte 01	---	---	+	+++
	Boîte 02	---	---	+	+++
	Boîte 03	---	---	++	+++

(+) : 1 puceron mort.

(++) : 2 pucerons morts.

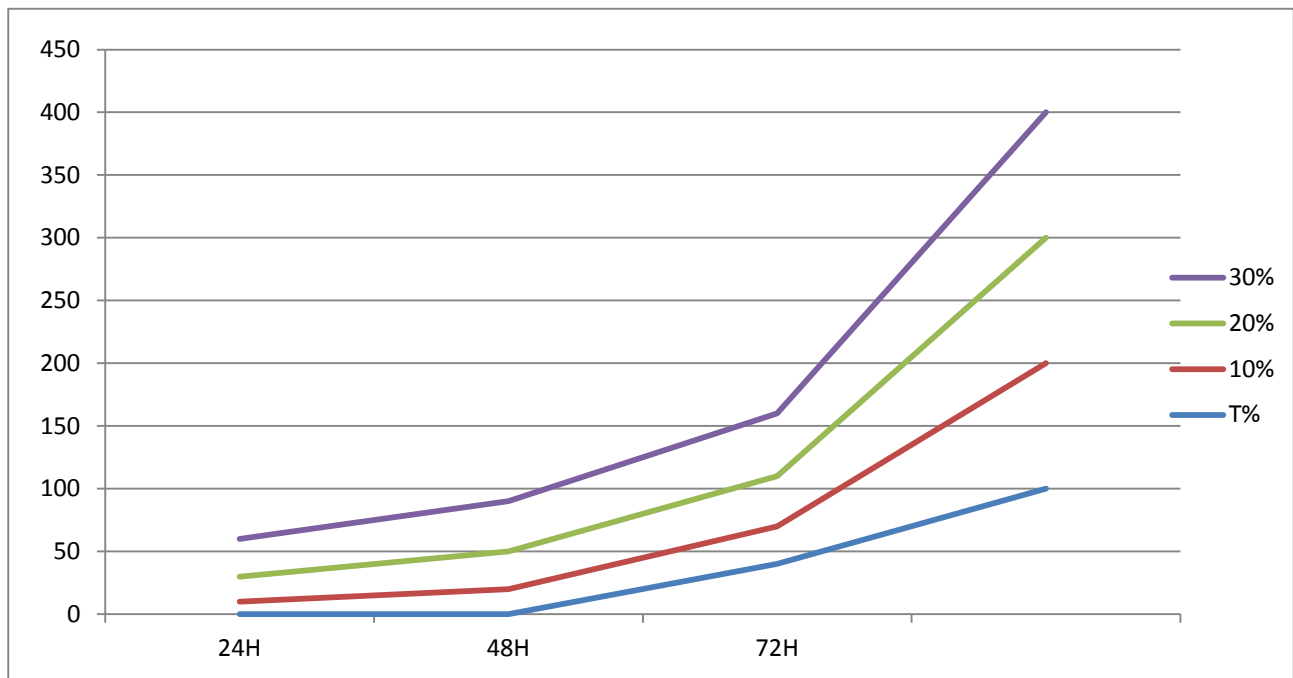
(+++): 3 pucerons morts.

(---) : pucerons vivants.

#### **Témoin :**

Il faut préciser que les pucerons du lot témoin, ont reçus comme traitement de l'eau distillée.

La figure 22, illustre l'évolution des taux de mortalité cumulée de *Toxoptera aurantii* par rapport aux témoins en fonction du temps et de la dose de l'extrait des feuilles de *P. lentiscus* utilisée. On observe une variation du taux de mortalité avec les doses de l'extrait testé et le temps.



**Figure 22: L'évolution du taux de mortalité cumulé de *P.lentiscus* sur *Toxoptera aurantii***

Comparativement au témoin, les trois doses choisies montrent un effet insecticide plus au moins important après 24 heures de l'exposition. Le taux de mortalité de 10% a été estimé pour la dose 10%, 20% pour la dose 20% et 30% pour la dose 30%, et il n'y a pas de mortalité pour le témoin.

On résulte pour le taux de mortalité après 48 heures de l'exposition 20% pour la dose 10%, 30% pour la dose 20%, 40% pour la dose 30% et après une période de 48 heures on enregistre aucune mortalité pour le témoin.

Après 72 heures de l'exposition les doses montrent un effet insecticide plus important. Le taux de mortalité 30% a été estimé pour la dose 10%, 40% le taux de mortalité pour la dose 20%, et pour la dose 30% on résulte un taux de mortalité à 50%.

Dans notre expérience on utilise un milieu de culture qui contient toutes les conditions favorables pour les développements des pucerons ce qui justifie par des naissances dans toutes les boîtes de pétri traitées par notre extrait (Tableau 06).

**Tableau 06: résultat les naissances durant la période du test**

Les concentrations %	Les boîtes traitées	Après 24 h	Après 48 h	Après 72 h	Après Une semaine
10%	1	04	03	01	/
	2	02	02	/	/
	3	03	/	/	/
20%	1	01	/	/	/
	2	02	/	01	/
	3	01	01	/	/
30%	1	01	/	/	/
	2	/	01	/	/
	3	/	/	/	/
T	1	/	05	03	/
	2	04	03	01	/
	3	02	01	01	/

Il existe chez certaines espèces de puceron un polymorphisme génétiquement déterminé du mode de reproduction permettant la coexistence, au sein d'une même espèce, de lignées variant dans leurs stratégies de reproduction (Simon *et al.*, 2002).

L'application des différentes dose sur les pucerons montrent qu'il n'y'a pas des effets de l'extrait sur le système génétiques des pucerons et surtout pour le témoin on observe plusieurs naissances.

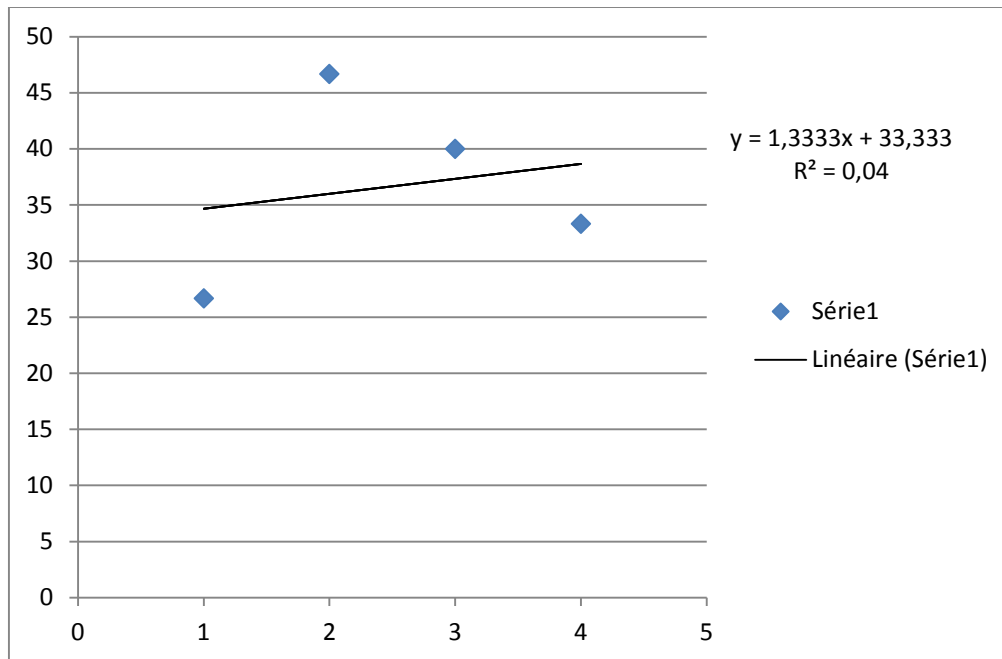
Les recherches qui ont été réalisé par Dedryver *et al.* (1998) ont noté la possibilité des effets du climat et son action sur la composition clonale des populations. Les études réalisées sur les pucerons des grandes cultures ont montré qu'il existait le plus souvent un clone latitudinal avec prédominance de clones anholocycliques dans les régions à hivers doux.

Selon les études Hullé *et al.* (2010) sur les modifications de température peuvent alors non seulement améliorer le taux de survie des individus parthénogénétiques mais également favoriser les clones anholocycliques, conduisant à une croissance exponentielle des populations et à l'émergence de nouveaux ravageurs.

La température enregistrée durant la période du test a été estimée à 21°C, valeur favorable pour le développement et la multiplication des pucerons ce qui justifie par des nouveaux stades et des naissances dans tous les boîtes de Pétri.

## VI- Les doses létales 50 et 90 :

Les résultats de la DL50 et DL90 sont déterminés par la courbe de tendance représentée par la figure 23.



**Figure 23 : L'évolution de la mortalité corrigée de l'extrait de *P. lentiscus* sur *T. aurantii***

Pour l'extrait de *P. lentiscus*, la dose létale 50 obtenue est égale à 12,50% et la dose létale 90% est égale à 42,51%. D'après ces résultats, l'extrait de *P. lentiscus* nécessite une dose très élevée pour tuer 90% de la population des pucerons traités, cette dose explique la faible toxicité de l'extrait de cette plante.

Les résultats des DL 50 obtenues à partir des droites de régression montrent une diminution de ces dernières dans le temps. La DL50 la plus élevée est obtenue à 24 heures. La plus faible DL50 a été obtenue 7 jours après traitement. Ces résultats montrent que la partie aérienne de *P. lentiscus* (tiges, feuilles, fleurs et fruits) s'avère toxique pour *T. aurantii*. Les constituants de cette plante expliquent son action insecticide.

### VII-Impact de l'eau sur l'efficacité des traitements :

Les résultats obtenus laissent supposé que la quantité de l'eau pourrait avoir un effet sur l'efficacité du traitement utilisé. En effet, lors des tests expérimentaux il a été noté que l'extrait de *P. lentiscus* était plus efficace à la concentration de 10% et 20% qu'à celle de 30%. Cela pourrait être expliqué par :

- La composition chimique des extraits hydro-alcooliques,
- La propriété de solvabilité de l'eau. Selon une explication moderne, la nature extrêmement polaire de l'eau fait qu'elle est un excellent solvant des substances

ionisables comme les sels, , des substances non ionisables mais polaires (les oses, les alcools simples, les amines et les molécules à fonction carbonyle, aldéhydes et cétone) (Reginald *et al.*, 2000).

## **Résumé :**

Pour préconiser l'application en champ d'une plante naturelle à propriété insecticide comme alternative à la lutte chimique contre les pucerons ravageurs, d'importants prérequis s'imposent sur son efficacité. La toxicité, la dose létale, le mode d'action, la persistance d'efficacité et la composition chimique des extraits méthanoïques des feuilles du *Pistacia lentiscus* ont été examinés sur l'espèce de puceron ravageur *Toxoptera aurantii*. La toxicité par contacte de l'extrait méthanoïques est faible sur les pucerons et provoque la mortalité totale des populations testées. La persistance d'efficacité des extraits est de 24h, 48h, 72h et finalement 07 jours. Les doses létale qui sont enregistrées au cours de duré de testes sont : DL 50 est 12,50% et DL90 est 42,51%. Le contact est la voie essentielle à leur efficacité. L'extrait méthanoïque, le plus actif, est de plus capable de se transmettre dans la colonie lors des tâches sociales. Il contient des composés phénoliques (tanins et flavonoïdes) et des saponines.

**Mots-clés :** *Pistacia lentiscus*, puceron, insecticide, extrait méthanoïque, la toxicité.

---

## **Abstract :**

To recommend applications in the field of a naturally insecticide plant substance as an alternative to chemical control against aphid attacks, several important prerequisites need to be satisfied to ensure its effectiveness. The toxicity, lethal dose, mode of action, persistence of insecticide effect and chemical composition of methane extracts of the leaves of *Pistacia lentiscus*, were tested with the *Toxoptera aurantii*. We used the method of Soxhlet because it is best-technique of extraction methane extracts. The Methane extracts were found to be lowly toxic to aphids on contact, killing the entire population tested. The insecticide effect of the extracts persisted from 24h, 48h, 72h, to 07 days. The lethal doses that are recorded during lasted tested are: LD 50 is 12,50% and LD90 is 42,51%.. Contact is essential to his effectiveness. The Methane extract of leaves, which is the most active, is also capable of being transferred through the colony during social tasks. It contains phenol compounds (tannins and flavonoids) and saponins.

**Keywords :** *Pistacia lentiscus*, aphid, insecticide properties, toxic, methane extracts.