

PUBLIQUE ALGERIENE DIMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLEB. Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département De Biologie

Mémoire de fin d'étude

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière sciences biologiques

Option : Parasitologie

Thème

**Essai de lutte contre le Coléoptère rouge de la farine
Tribolium castaneum à base de l'huile essentielle de la
Menthe citronnée *Mentha citrata***

Présenté par:

- Bouamoud Hanane
- Boukerchaoui Hanane

Date de la soutenance :

12 septembre 2022

Devant le jury

Dr. TAIL G.....ProfesseurDép. Biologie/univ. Blida 1.....Présidente

DR. KARA F/zProfesseur.....Dép. Biologie/Univ. Blida1.....Examinatrice

Dr. BENDJOUDI D.....ProfesseurDép. Biologie/Univ. Blida1 Promoteur

DR. BENTOURA s.....Docteur.....ISV Univ.Blida1 Co-promotrice

-Promotion 2021 -2022

Remerciement

*L*e premier remerciement à Allah, le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire. C'est grâce à lui nous sommes là aujourd'hui.

*T*out d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de notre promoteur Professeur **Bendjoudi Djamel**, il nous a dirigés dans notre travail et nous a aidé à trouver des solutions pour avancer. On le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, sa patience, ses conseils, sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

*N*ous remercions énormément et vivement au Docteur **Bentoura Sihem** pour son amabilité de nous accepter comme stagiaires, son aide et d'avoir partagé ses connaissances de manières très pédagogiques, pour le temps passé ensemble et surtout sa gentillesse.

*N*ous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres des jurys Professeur Tail Ghania, et Professeur Kara F/Z pour leur présence, pour leur lecture de notre mémoire et pour les remarques qu'ils nous adresseront au cours de cette soutenance afin d'améliorer mon travail. Nos chaleureux remerciements vont particulièrement à Mme **Saïbi laila**, ingénieur du laboratoire de **Hadjer** de la faculté vétérinaire de l'université de Blida 1, pour leur aide et leur disponibilité.

*N*ous tenons également à remercier les professeurs de l'Université de Saad Dahleb de Blida 1, qui nous ont fourni les outils dont nous avons besoin pour réussir dans nos études universitaires.

*P*our les amies qui nous ont aidés avec leurs paroles et positivité à accomplir ce travail, elles étaient avec nous au moment où nous avons eu besoin d'eux.

Hanane et Hanane

Dédicace

A mes très chers parents, source de vie, d'amour et d'affection

Mon père Mhamed et ma mère Zahia

A mes chers frères, source de joie et de bonheur ; Housseem, Amine, Abdel Rahim, Abdel
Djalil et Abdel Basset,

A ma cousine Asmaa, ses parents et ses frères, Source d'optimisme et de gentillesse

A mes meilleures amies, source d'espoir et de motivation tout particulièrement Asma, Hadil,
Hiba, Meriem, Radhia, Noudjoud, Imeneet Nadjet.

A Hanane, chère amie avant d'être binôme

A vous cher lecteur

Bkr. Hanane

Dédicace

Merci à Dieu le plus puissant qui nous a aidés à terminer ce modeste travail.

Je dédie ce travail à mes parents Bouamoud Youcef et Bouamoud Fatiha qui m'ont élevé, aimé et encouragé depuis l'enfance, Merci de prendre toujours soin de moi.

À mes frères Amine, Abdou al Rahman et Nabil, à ma sœur Safia et sa petite princesse Farah, qui ont continué à rendre ma vie pleine d'amour et de paix.

À mes amis Hadil, Hiba, Nadjet, Asma, Meriem, Rima et Romaiassa merci d'être la lumière dans les moments les plus vulnérables de nos vies

A ma sœur Hanane, avant qu'elle devienne ma binôme, merci d'avoir pris ce chemin avec moi.

Bmd.Hanane

Résumé

L'étude réalisée porte sur l'évaluation du pouvoir insecticide par contact de l'extrait méthanolique de la Menthe citronnée *Mentha citrata* sur le taux de mortalité des adultes de *Tribolium castaneum*. L'extrait est préparé à partir des feuilles de cette plante, il est préparé à différentes concentrations : 200mg/ml ; 100mg/ml ; 50mg/ml et 25mg/ml durant 7 jours. Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extraction de la Menthe citronnée est de 23,40 %. Les mortalités trouvées varient en fonction des doses et du temps d'exposition des individus aux extraits méthanoliques de la Menthe citronnée qui ont indiqué un taux de mortalité allant de 23,33% jusqu'à 83,33% après 168heuresd'exposition. Par ailleurs, l'estimation de la dose létale 50 montre l'effet insecticide de ces préparations vis-à-vis des adultes de *T. castaneum*. Ces valeurs rapportées sont de l'ordre (DL50 : 105,79 mg/ml et 55,62 mg/ml) après 96h et 120h respectivement. Les TL50 calculées varient entre 1j 11h et 5jrs 22h et les TI90 sont de 27jrs 2h à 71jrs 4h. Ces valeurs obtenues sont rapportées de plus forte dose 200mg/ml à faible dose 25mg/ml respectivement.

L'extrait méthanolique peut avoir un effet toxique sur les adultes de *T. castaneum*.

Mots clés : *Tribolium castaneum*, *Mentha citrata*, extrait méthanolique, insecticide, mortalité.

Abstract

The study carried out concerns the evaluation of the insecticidal power by contact of the methanolic extract of lemon mint *Mentha citrata* on the mortality rate of adults of *Tribolium castaneum*. The extract is prepared from the leaves of this plant, it is prepared at different concentrations: 200mg/ml; 100mg/ml; 50mg/ml and 25mg/ml for 7 days. The results obtained show that the yield of the extraction of lemon mint is 23.40%. The mortalities found vary according to the doses and time of exposure of individuals to methanolic extracts of lemon mint, which indicated a mortality rate ranging from 23.33% to 83.33% after 168 hours of exposure. Furthermore, the estimate of the lethal dose of 50 shows the insecticidal effect of these preparations against adults of *T. castaneum*. These reported values are of the order (LD50: 105.79 mg/ml and 55.62 mg/ml) after 96 hours and 120 hours respectively. The calculated TL50s vary between 1day 11h and 5days 22h and the TI90s are from 27days 2h to 71days 4h . These values obtained are reported from higher dose 200mg/ml to lower dose 25mg/ml respectively. The methanolic extract may have a toxic effect on adult *T. castaneum*.

Keywords: *Tribolium castaneum*, *Mentha citrata*, methanolic, extract, insecticide, mortality.

ملخص

تركز الدراسة التي أجريت على تقييم فاعلية المبيدات الحشرية عن طريق ملامسة المستخلص الميثانولي من *Mentha citrata* على معدل وفيات البالغين من *Tribolium castaneum*.

يحضر المستخلص من أوراق نبات *Mentha citrata*، ويصنع بتركيزات مختلفة: 200 ملغ/مل؛ 100 ملغ/مل؛ 50 ملغ/مل و25 ملغ/مل لمدة 7 أيام. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن محصول استخراج هذا المصنع هو 23.40%. تختلف الوفيات التي يتم العثور عليها اعتمادًا على الجرعات ووقت تعرض الأفراد للمستخلصات الميثانولية من نعناع الليمون والتي تشير إلى معدل وفيات يتراوح من 23.33% إلى 83.33% بعد 168 ساعة من تعرضها لها. علاوة على ذلك، فإن تقدير الجرعات المميتة 50 يبين تأثير مبيدات الحشرات لهذه المستحضرات على البالغين من *T. castaneum*. هذه القيم المبلغ عنها هي من الترتيب، 79، 105، 62، 55 ملغم/مل بعد 96 ساعة و120 ساعة على التوالي. يتراوح الوقت المميت 50 المحسوب من 1 يوم و11 ساعة إلى 5 أيام و22 ساعة و الوقت المميت 90 من 27 يوم و2 ساعة إلى 71 يوم و2 ساعة. مع الإبلاغ عن القيم الناتجة من أعلى جرعة 200 ملغ/مل إلى جرعة منخفضة 25 ملغ/مل على التوالي.

قد يكون لمستخلص الميثانول تأثير سام على البالغين من *Tribolium castaneum*.

الكلمات المفتاحية: *Mentha citrata* *Tribolium castaneum*، طعام مخزن، المستخلص الميثانولي، المبيدات الحشرية الوفيات.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	la valeur du rendement d'extraction en principe actif dissout à partir des feuilles.	33
Tableau 02	Evaluation de la mortalité observée de <i>Tribolium castaneum</i> adulte sous l'action de différentes doses d'extraits methanoliques de <i>Mentha citrata</i>	34
Tableau 03	Droites et coefficients de régression et les valeurs des concentrations létaux DL50 et DL90 évalués pour 2 jours	36
Tableau 04	Droites et coefficients de régressions et les valeurs de temps létaux (TL50 ; TL90) évaluées pour les 4 concentrations	38

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 1	Œuf, larve, nymphe, adulte de <i>Tribolium castaneum</i> H. (Linda J. Mason, 2018).	06
Figure 2	Dégâts de <i>T. castaneum</i> sur la semoule (Cherfi et Gassi, 2020)	07
Figure 3	Partie et feuilles aériennes de <i>Menth acitrata</i> (Achour <i>et, al</i> 2019).	09
Figure 4	Quelques exemples des structures des terpènes (Belguidoum, 2012).	11
Figure 5	Structure de quelques composés phénoliques (Wang et Mazza, 2002).	11
Figure 6	structure générales d'un alcaloïde (Bernard C, 2018).	12
Figure 7	le principe de l'extraction au soxhlet Samuel K T & Siisu S, 2017)	13
Figure 8	La Menthe citronnée <i>Mentha citrata</i> (Originale).	18
Figure 9	Séchage des feuilles de <i>Mentha citrata</i> (Originale).	19
Figure 10	Farine du blé contaminé par le <i>Tribolium castaneum</i> (originale).	19
Figure 11	Elevage de masse des individus de <i>T. castaneum</i> (Originale).	22
Figure 12	Le Coléoptère rouge de la farine <i>Tribolium castaneum</i> (Originale).	21
Figure 13	Procédure de macération de la plante dans le méthanol (originale).	22
Figure 14	Filtration et récupération de filtrat (Originale).	23
Figure 15	Evaporation à sec par le rotavapeur (Originale).	23
Figure 16	Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.	24
Figure 17	Réalisation expérimentale pour l'étude de la toxicité des extraits de <i>M. citrata</i> sur les individus de <i>Tribolium castaneum</i> (Originale).	25
Figure 18	La partie ventrale de <i>Tribolium cataneum</i> vue sous la loupe binoculaire (×20), (Originale).	27
Figure 19	Observat ventrale de la tête, des yeux et des antennes de <i>T. castaneum</i> sous la loupe binoculaire (×40), (Originale).	28

Figure 20	Observation de la face dorsale de <i>Tribolium castaneum</i> vue sous la loupe binoculaire (×20), (Originale)	28
Figure 21	Observation de la larve de <i>T. castaneum</i> vue sous la loupe binoculaire (×40) (Originale)	29
Figure 22	Observation du dernier segment de l'abdomen qui a deux structures sombres et pointues retournées vue sous la loupe binoculaire (×40), (Originale)	29
Figure 23	Observation de la nymphe de <i>T. castaneum</i> sous la loupe binoculaire (×40) (originale)	30
Figure 24	Observation des larves de <i>Tribolium castaneum</i> (originale)	30
Figure 25	Observation des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> (originale)	31
Figure 26	Cycle de vie de <i>Tribolium castaneum</i> sur la farine dans la condition de la maison	32
Figure 27	Variation de taux de mortalité observé chez les adultes de <i>Tribolium castaneum</i> témoins et traités exposés à l'extrait méthanolique de <i>Mentha citrata</i> par contact	35
Figure 28	Taux de mortalité des <i>T. castaneum</i> en fonction du logarithme des doses de <i>M. citrata</i> après 96h et 120h de traitement	37
Figure 29	Action de l'extrait de <i>M. citrata</i> à la concentration 25mg/ml dans le temps sur <i>T. castaneum</i>	38
Figure 30	Action de l'extrait de <i>M. citrata</i> à la concentration 50mg/ml dans le temps sur <i>T. castaneum</i>	38
Figure 31	Action de l'extrait de <i>M. citrata</i> à la concentration 100mg/ml dans le temps sur <i>T. castaneum</i>	39
Figure 32	Action de l'extrait de <i>M. citrata</i> à la concentration 200mg/ml dans le temps sur <i>T. castaneum</i>	39

Liste des abréviations

HE : huile essentielles.

HD: hydrodistillation.

MHG: Microwave Hydro diffusion and Gravity.

MSDf: Microwave steam diffusion.

Sdf : steam diffusion.

OS-SD: Organic Solvent- Steam Distillation

ADN : Acide DésoxyriboNucléique.

ITIS: Integrated Taxonomic Information System

RE : rendement d'extraction

CCLS : Coopérative des céréales et légumes secs

Mo : mortalité observé

MC: la mortalité corrigée

Glossaire

Activité immunomodulatrice : augmentation de l'activité phagocytaire des macrophages et l'augmentation de la cytotoxicité spécifique des lymphocytes pour les cellules cibles.

Activité antibactérienne : substance active utilisée pour lutter contre des bactéries, les gênantes, qui détruit les bactéries avec une action bactéricide

Activité antifongique : substance qui possédant la capacité de traiter les mycoses, c'est à dire des infections causés par des champignons microscopiques et levures.

Antalgiques : moyen qui prévient, atténue ou supprime la douleur.

Anticonvulsivant : médicaments utilisés dans la prévention et le traitement de l'épilepsie et des différentes formes de convulsions.

Antiémétique : un médicament qui agit contre les vomissements et les nausées.

La dyspepsie : des symptômes digestifs fonctionnels hauts. Elle se caractérise par une douleur ou sensation d'inconfort après le repas, localisée au niveau de la partie supérieure de l'abdomen.

L'aérophagie : l'ingestion d'air, qui pénètre dans l'œsophage et l'estomac lorsque l'on parle, boit et mange.

Les spasmes : Contraction pathologique des muscles et spécialement des muscles lisses.

Nervosité : état d'excitation nerveuse passagère.

Rustique : une plante qui résiste au froid.

Vivace : une plante qui vit plus de deux années.

Sommaire

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des d'abréviation

Glossaire

Introduction..... 01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1.- Généralités sur le coléoptère rouge de la farine *Tribolium castaneum*03

I.1.1.- Les caractères généraux 03

I.1.2.- Position systématique..... 03

I.1.3.- Morphologie 04

I.1.4.- Description des différents stades du *T. castaneum* 04

I.1.5.- Régime alimentaire et dégâts dus à *T. castaneum* 06

I.1.6.- Les ennemies naturelle..... 07

I.2.- Présentation de la plante menthe citronnée (*Mentha citrata*)..... 07

I.2.1.- La menthe citronnée (*Mentha citrata*) 08

I.2.2.- Classification botanique 08

I.2.3.- Description morphologique..... 08

I.2.4.- Répartition géographique 09

I.3.- Généralités sur les métabolites secondaires

I.3.1.- Les métabolites secondaires 09

I.3.1.1.- Les terpènes 10

I.3.1.2.- Les composés phénoliques 11

I.3.1.3.- Les alcaloïdes 11

I.3.2.- Extraction de métabolites secondaires à partir des plantes..... 12

I.3.2.1.-Méthodes conventionnelles..... 12

I.3.2.2.- Méthodes alternatives 14

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1.- Objectif	18
II.2.-Matériel	18
II.2.1.- Matériel végétal.....	18
II.2.2.- Matériel animal.....	19
II.2.3.- Matériel du laboratoire	19
II.3.- Méthodes.....	20
II.3.1.- Méthodes d'élevage et d'identification de <i>Tribolium castaneum</i>	20
II.3.1.1.- Identification morphologiques de <i>Tribolium castaneum</i>	20
II.3.1.2.- Elevage de <i>T. castaneum</i>	21
II.3.2.- Procédure d'extraction de l'extrait méthanolique de <i>Mentha citrata</i>	22
II.3.3.- Rendement d'extraction (RE)	24
II.4.- Test de toxicité	24
II.4.1.- Taux de mortalité.....	24
II.5.- Calcul de la DL50 et la TL50	25
II.5.1.- La DL50 (dose létale 50).....	25
II.5.2.- La TL50 (temps létale 50).....	25

Chapitre III : Résultat et discussion

III.1.- Résultat.....	27
III.1.1.-Confirmation de l'espèce	27
III.1.2.- Les paramètres biologiques observés de la population de <i>Tribolium castaneum</i>	30
III.1.3- Rendement d'extraction.....	32
III.1.4.- Calcul de la toxicité de l'extrait méthanolique de <i>M. citrata</i> par contact chez <i>T. castaneum</i>	33
III.1.4.1.- Toxicité par contact	33
III.1.4.2.- Calcul de DL50	36
III.1.4.3.- Calcul de TL50 et TL90	37
III.2.-Discussion	40
Conclusion	42

Références bibliographiques.

.Annexe.

Introduction

Introduction

Les céréales et leurs dérivés constituent la base alimentaire des populations de globe, le blé est l'une des plantes introduite en culture en raison de nombre de caractères favorable (facilité de stockage et de transport, large zone de culture). Ce type de denrée est habituellement attaqué par différentes espèces de l'ordre des coléoptères, et des lépidoptères et des acariens (Alzouma *et al.*, 1994; Fleurat-Lessard, 1994). Parmi les coléoptères les plus fréquents, le Coléoptère rouge de la farine (*Tribolium castaneum*), (Coleoptera: Tenebrionidae), est le ravageur sérieux des céréales stockées et de leurs produits dans le monde entier. Il cause de graves dommages aux graines oléagineuses, aux noix, aux fruits secs, aux épices, aux fèves de cacao, aux légumineuses, aux graines de coton, au fourrage et aux produits animaux (Rajendrah et Parven 2005 ; Hagstrum et Subramanyam, 2008; Mahroof et Hagstrum 2012; Fardisi *et al.*, 2017).

En Algérie, les produits céréaliers, notamment le blé, occupent une place stratégique dans le système alimentaire et l'économie nationale (Djermoun, 2009). Cependant, la conservation après récolte est le seul moyen d'assurer un lien entre la récolte de l'année et la consommation à long terme. Les cultures conservées dans des conditions défavorables sont généralement attaquées par la moisissure, par des insectes et par les rongeurs (Foua-Bi, 1989). Les infestations d'insectes et la croissance de moisissure dans le blé entreposé ont deux conséquences. Modifications de la qualité des grains affectant la valeur nutritionnelle et la production de mycotoxines des produits dérivés (Pitt et Hocking, 1997).

Le contrôle de ces insectes à l'échelle mondiale repose principalement sur l'application d'insecticides chimiques. Mais leur utilisation répétée s'est traduite par une toxicité résiduelle, une pollution environnementale, des effets néfastes sur les aliments et la santé humaine (Dubey *et al.*, 2007, Kumar *et al.*, 2007). Ces graves problèmes mettent en évidence la nécessité d'alternatives sélectives aux pesticides. La recherche de méthodes alternatives s'est développée rapidement ces dernières années, avec une sélection axée sur les composés phytochimiques contenus dans les différentes parties de la plante et leur composition chimique (Djidel *et al.*, 2018). Les composés végétaux naturels peuvent être des alternatives efficaces aux pesticides chimiques, en raison de leur faible toxicité pour les mammifères, de leur dégradation rapide et de leur grande disponibilité (Rajendran et Sriranjini, 2008).

Dans ce travail nous nous proposons d'évaluer l'activité insecticide des extraits de la plante aromatique et médicinale (*Mentha citrata*) appartenant à la famille botanique (*Lamiaceae* ou *Labiatae*), sur les adultes de l'insecte de denrée stocké (*Tribolium castaneum*).

L'adoption de cet extrait méthanolique était due au rendement nul en huile essentielle qui est affecté par différents facteurs, nous pouvons conclure que ce résultat est dû à un de ces facteurs. Des études ont mis en évidence l'influence de la technique d'extraction, du cycle végétatif sur le rendement et la qualité de l'HE (Gomes PB, 2014). La composition chimique de l'HE est affectée aussi par les périodes estivales ou hivernales, les températures maximales et minimales, la durée d'ensoleillement et le pic des radiations solaires, la pluviométrie, l'altitude, la nature du sol et son pH. Les pratiques culturelles déterminent aussi la qualité des HE. L'influence des apports organiques et minéraux a été étudiée sur différentes plantes aromatiques (Boukhatem M N, et al., 2010).

Le présent manuscrit se partage en trois chapitres :

- Un chapitre sur une synthèse bibliographique qui a été scindée en trois parties : la première partie représente un aperçu biologique sur *Tribolium castaneum*, la deuxième sur une présentation de la plante étudiée la Menthe citronnée *Mentha citrata*. Et la dernière partie est une porte générale sur les métabolites secondaire. Dans le deuxième chapitre, nous exposons le matériel et la méthodologie retenue pour cette étude. Enfin et dans le dernier chapitre, nous regroupons les résultats et la discussion relatifs aux expérimentations dans le cadre de cette présente contribution. Cette étude est clôturée par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I : Synthèse
bibliographique

I.1.- Généralités sur le coléoptère rouge de la farine *Tribolium castaneum*

Les coléoptères constituent l'ordre d'insectes le plus riche en espèces, on estime actuellement leur nombre à plus de 350000 espèces réparties sur environ 500 familles et sous-familles dont la famille des Tenebrionidae (Delobel et Trane, 1993). Cette dernière regroupe plus de 17000 espèces (Hunt *et al*, 2007). Le genre *Tribolium* comprend 36 espèces (Angelini et Jockusch, 2008). En Algérie, le genre *Tribolium* est représenté dans des entrepôts par deux espèces *T. castaneum* et *T. confusum* (Doumandji *et al*, 2003).

D'après Cheikh (2019), le coléoptère rouge de la farine est un insecte nuisible cosmopolite et polyphage, rencontré dans toutes les régions tropicales du monde (Bonneton, 2010) infestant particulièrement certaines denrées comme les arachides décortiquées, les tourteaux, le riz, le maïs, le mil, le sorgho, et le blé. Il est considéré comme un ravageur secondaire strict causant d'importants dégâts sur les stocks de très nombreuses denrées amylacées notamment les farines de céréales (Roorda *et al*. 1982).

I.1.1.- Les caractères bioécologiques de *T. castaneum*

Le développement de *Tribolium castaneum* est optimal à des températures oscillant entre 32°C et 35°C avec 60% à 80% d'humidité relative. Dans ces conditions, la durée d'une génération peut être de 27 à 35 jours (Shazali et Smith, 1986). Ils sont très résistants à la sécheresse et capable de survivre à un jeûne de 25 à 45 jours (Ncibi, 2020).

Des études de Gueye *et al.*(2012), ont montré que la température ambiante, l'humidité relative de l'air et le type de nourriture (grain entier et farine) ont un effet sur la durée du cycle de développement de *T. castaneum*. Leur longévité peut atteindre près de trois ans (Mason, 2003). La durée du cycle complet du Coléoptère rouge de la farine varie généralement entre 7 semaines à 3 mois. Les adultes se nourrissent des mêmes aliments que les larves et vivent entre 15 et 20 mois (Gueye *et al*, 2015), on peut rencontrer cinq générations par an (Gueye *et al*, 2015).

I.1.2.-Position systématique

Selon Haines, 1991; Bolev, 2014; Myers *et al.*, 2016 la classification de *Tribolium castaneum* est la suivante :

- **Règne:** Animalia
- **Phylum:** Arthropoda
- **Sub phylum:** Hexapoda
- **Classe:** Insecta
- **Ordre:** Coléoptères
- **Super famille:** Tenebrionoidea
- **Famille:** Tenebrionidae
- **Sous-famille:** Tenebrioninae
- **Tribu:** Triboliini
- **Genre :** *Tribolium*
- **Espèce :** *castaneum*

I.1.3.- Morphologie

Tribolium castaneum est un insecte de 3-4 mm de long, facile à élever (Bonneton, 2010). Au stade adulte, il est facilement confondu avec d'autres espèces du même genre. Les mâles et les femelles se distinguent par la partie terminale de l'abdomen. Dans les deux sexes, l'abdomen se termine par une paire d'appendices pointus courts à l'extrémité du dernier segment abdominal (urogomphes). Chez les femelles, les papilles génitales, situées juste en avant des urogomphes, sont nettement plus développées que chez les mâles (Sokoloff, 1974), les papilles mâles sont plus petites.

Les coléoptères adultes sont actifs et se déplacent irrégulièrement. Les mâles adultes sont distingués par glandes (qui s'accumulent souvent farine) sur leurs pattes prothoraciques. Les adultes de *Tribolium* sont pourvus d'ailes, mais ils sont incapables de voler (Ncibi, 2020).

I.1.4.- Description des différents stades du *T.castaneum*

Tribolium castaneum subit une métamorphose complète qui englobe quatre étapes du cycle de vie : œuf, larve, pupa, et l'adulte (Sreeramoju et Msk, 2016). Dans la farine infestée, les larves, pupes et adultes sont visibles, à cause de leur taille. Mais, les œufs sont difficilement reconnaissables de la farine, particulièrement à l'œil nu car les particules de la farine adhèrent aux œufs rendant leur identification plus ardue.

a.- L'œuf

Ils mesurent de 0,6 à 0,7 mm de longueur et 0,35 à 0,4 mm de largeur, sont cylindriques, blancs ou incolores et microscopiques (Fig. 1). La surface de l'œuf est collante; pâte et particules alimentaires peuvent coller à sa surface. Les œufs minuscules éclosent aux environs de cinq jours aux conditions optimales (Maisommeuve et Larose, 1985) et ne peut pas être vu par l'œil nu. Après que la femelle pond les œufs (Sreeramoju et Msk, 2016), ils éclosent après une incubation d'une semaine en moyenne à 25°C.

b.- Les larves

Les larves subissent de 5 à 8 stades larvaires dans des conditions de développement optimale, mais jusqu'à 13 stades larvaires si les conditions sont défavorables. Ils sont vermiformes et pourvues de pattes à l'extrémité du dernier segment abdominal et une paire de courts appendices. Elles mesurent 6 mm de long, environ 8 fois plus longue que large (Fig. 1). Elles sont blanches jaunâtres, minces, cylindriques et couvertes de poils fins. La tête est brun clair et le dernier segment de l'abdomen a deux structures sombre et pointues tournées vers le haut (Sreeramoju et Msk, 2016), elle porte deux épines. Le nombre de mues, de 5 au minimum, 11 au maximum (Gueye *et al.*, 2015), varie selon de nombreux facteurs à savoir la température, l'humidité, et la qualité de l'alimentation.

A la fin du dernier stade larvaire, les larves s'immobilisent, cessent de se nourrir et se transforment en nymphes immobiles (Gueye *et al.*, 2015). La période larvaire dure de 15 jours à plus (Sreeramoju et Msk, 2016).

c.- La puppe

Le Coléoptère rouge de la farine n'a pas de cocon et selon (Christine, 2001), la forme de nymphe chez *T.castaneum* est cylindrique et de couleur blanchâtre virant vers le jaune, au départ mais leur couleur s'assombrit graduellement avant de devenir adultes. À ce stade, le coléoptère est dormant et ne mange pas que toute l'énergie est mise dans la métamorphose. Le stade nymphal dure environ cinq jours (Fig. 1). Le sexe de coléoptères au stade nymphal est plus facile à déterminer ; les papilles femelles, qui sont beaucoup plus grands que ceux du mâle, sont deux structures en forme de doigt juste avant l'urogomphi pointu à l'extrémité postérieure de l'abdomen des larves et des pupes). A ce stade, le coléoptère se réorganise complètement devenir un adulte (Sreeramoju et Msk, 2016).

d.- L'adulte

Le coléoptère rouge adulte est un petit insecte, il mesure environ 3 à 4 mm de long avec un corps plat aux cotés incurvés de couleur brun rougeâtre (Fig. 1). La tête et la partie supérieure du thorax sont couvertes de piqueurs minuscules. Les antennes sont élargies à l'extrémité (capitat) avec les trois derniers segments plus larges que les segments précédents, les yeux sont de couleur noir rougeâtre. La partie terminale de l'abdomen porte deux épines (Delobel et Tran, 1993), les élytres présentent des lignes longitudinales pointillées. Les *Tribolium* vivent longtemps jusqu'à trois ans (Sreeramoju et Msk, 2016) ; certaines ont survécu pendant 2,5 ans, les femelles pondant de 2 à 13 œufs par jour pendant 300 jours. Elles produisent une moyenne à vie d'environ 500 à 800 œufs blancs et sphériques. Certaines femelles étant capables de produire plus de 900 œufs, les déposant directement dans la matière alimentaire.



Figure 1: Œuf, larve, nymphe, adulte de *Tribolium castaneum* H. (Linda J. Mason, 2018).

I.1.5.- Régime alimentaire et dégâts dus à *T.castaneum*

Les dommages directs au produit sont causés par l'alimentation des larves et des adultes de *T.castaneum* qu'il est un insecte qui se nourrit sur les noix, les fruits secs, les légumineuses, les épices et les aliments transformés (Delobel et Tran, 1993), mais les farines et autres produits moulus sont préférés. Ils se nourrissent surtout des brisures, attaquent les grains endommagés et affectent la qualité technologique en détériorant la qualité du gluten de la farine, mais un problème plus grave est la contamination du produit par des peaux moulées, des insectes morts et des matières fécales. De plus, les grandes populations de coléoptères sécrètent des quinones défensives qui provoquent des odeurs désagréables, persistantes et réduisent la qualité des produits, à forte densité, il peut conférer une coloration rosée aux denrées qu'il infeste (Fig. 2).

Ce problème affecte l'économie à l'échelle mondiale, du fait du cout élevé des pertes provoquées par les insectes ravageurs des denrées alimentaires stockées (*Triboliumcastaneum*), pouvant atteindre 475 millions de dollars par an (Dominguez et Marrero, 2010).

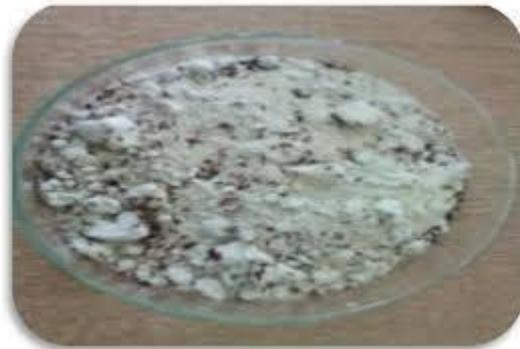


Figure 2: Dégâts de *T.castaneum* sur la semoule (Cherfi et Gassi, 2020).

I.1.7.- Les ennemies naturelles

Pour lutter contre les insectes ravageurs, on utilise leurs ennemis naturels dont les parasitoïdes, les bactéries, les virus, les champignons, les protozoaires, et les nématodes (Kumar, 1991). L'espèce la plus connue dans ce domaine est la bactérie *Bacillus thuringiensis* Berliner, (Guèye *et al*, 2011) qui est une bactérie ubiquiste gram positive qui produit des cristaux parasporaux lors de la phase stationnaire de son cycle de développement. Ces cristaux sont des endotoxines et ont des activités larvicides/insecticides contre des Coléoptères, des Lépidoptères et des Diptères d'où son utilisation comme pesticides naturels (Schnepf *et al*, 1998). Et aussi le prédateur *Xylocoris flavipes* qui (Rahman *et al*, 2009) est une espèce connue pour combattre les œufs et les larves de ravageurs des denrées stockées. Certains ennemis naturels ne s'attaquent également qu'à des stades précis de développement.

I.2.- Présentation de la plante, la Menthe citronnée (*Mentha citrata*)

La plante aromatique de la menthe appartient à la famille des Lamiacées, un genre industriel et économique important, comprenant environ 25 espèces, largement distribuées dans le monde, avec une forte prévalence dans la région méditerranéenne (Lawrence, 2007). En particulier, la menthe a été utilisée sous forme de thé pour soulager de nombreux maux (Benabdallah *et al.*, 2018 ; Begaa et Messaoudi, 2019). Elle a de nombreuses activités biologiques prouvées, telles qu'antiémétique, anticonvulsivant, traite de nombreux troubles respiratoires et gastro-intestinaux, et possède une activité antibactérienne et antifongique

importante (Mimica-Dukic *et al.*, 2003 ; Mimica-Dukic et Bozin, 2008 ; Hassan *et al.*, 2013 ; Brahmi *et al.*, 2017 ; Butnariu et Sarac, 2018 ; Begaa *et al.*, 2018; Leal *et al.*, 2013; Begaa et Messaoudi, 2018).

I.2.1.-La menthe citronnée (*Mentha citrata*)

La menthe citronnée est un croisement entre la menthe poivrée *M. X piperata* et la menthe aquatique *M.aquatica*. Elle est également connue sous le nom de menthe bergamote ou menthe Cologne. Cette plante herbacée vivace, originaire d'Europe, est une plante médicinale de la famille des Lamiacées (Anemone *et al.*, 2017).

I.2.2.- Classification botanique

La menthe citronnée est un genre (*Mentha*) d'herbes vivaces de la famille des Labiaceae, de la sous-famille des Nepetoideae, de la tribu Menthae, et comprend de nombreuses espèces, dont beaucoup sont cultivées comme aromatiques et assaisonnement, ornemental ou médicinal (Cantino *et al.*, 1992).

Selon Linné (1753), la classification phylogénétique de la menthe citronnée était la suivante :

- Règne : Plantae
- Classe: Magnoliopsida
- Ordre: Lamiales
- Famille: Lamiaceae
- Sous-famille: Nepetoideae
- Tribu: Mentheae
- Genre : *Mentha*
- Espèce: *Mentha citrata*

I.2.3.-Description morphologique

Est une variété aux feuilles vertes et jaunes qui dégagent un parfum citronné. Cette herbe, rustique et vivace, pousse sous terre ou en pots. Sa hauteur atteindra 60 à 80 cm.

La menthe citronnée est une plante buissonnante aromatique aux feuilles lisses, ovales-elliptiques et très parfumé aux branches tombantes aux extrémités dressées. Les fleurs sont

violettes (Fig. 3). Il est préférable de l'installer à mi-ombre, même si la menthe peut s'installer presque n'importe où. C'est une vivace et elle poussera en deux ou trois ans, car au-delà, elle a tendance à s'user et à devenir peu productive. La menthe se propage très rapidement grâce à ses racines rampantes. Elle est idéale pour repousser les insectes indésirables du jardin, comme les pucerons et les fourmis, ainsi que certains rongeurs, la récolte des feuilles elle a lieu tout au long de l'année principalement de mars à octobre (Anemone *et al.* 2017).



Figure 3: Parties et feuilles aériennes de *Mentha citrata* (Achour *et al.*, 2019).

I.2.4.- Répartition géographique

L'origine de la menthe citronnée est l'Inde, on ne la trouve qu'aux États-Unis, au Royaume-Uni, la Chine, Inde aux Pays-Bas et en Afrique du Nord (Algérie, Maroc...), de nombreux jardins et des cultures industrielles implantées. La menthe citronnée se trouve dans les sols humides sur les côtés des fossés, des chemins de circulation, et ne nécessite pas une qualité de sol élevée (Anton, 2005).

I.3.-Généralités sur les métabolites secondaires

Plus de 250 000 espèces végétales sont actuellement connues. Ceux-ci produisent différents produits chimiques avec des structures différentes. Nous les distinguons Métabolites primaires et secondaires.

Les composés organiques végétaux peuvent être divisés en deux catégories : premièrement, les composés qui sont présents dans toutes les cellules et jouent un rôle central dans le métabolisme cellulaire et la régénération cellulaire, tels que les acides nucléiques, les acides aminés, les oses et les lipides ; et sont connus comme un élément majeur métabolite. Ces derniers, en tant que métabolites secondaires, n'agissent pas directement au niveau de l'activité de base de la plante (Guignard., 1996 ; Hanson., 2003).

Les métabolites secondaires sont souvent produits aux plus hauts niveaux lors du passage de la croissance active à la phase stationnaire. L'organisme producteur peut se développer sans leur synthèse, ce qui laisse supposer que le métabolisme secondaire n'est pas essentiel, au moins pour la survie à court terme (Roze *et al*, 2011).

I.3.1- Les métabolites secondaires

Selon Bruneton (1993), Tyler *et al*, (1981) et Guignard (1996), la classification des métabolites secondaires consiste en trois grands groupes. Terpenoïdes (tels que les composés volatils des plantes, les glycosides cardiaques, les caroténoïdes et les stérols). Les composés phénoliques (acides phénoliques, coumarins, lignanes, stilbènes, flavonoïdes, tannins et lignine) et les alcaloïdes ou les composés azotés.

I.3.1.1- Les terpènes :

Les terpenoïdes sont la plus grande et la plus diverse famille de produits naturels (Fig. 4), dont la structure varie des molécules linéaires aux molécules polycycliques, et la taille de l'hémiptère à cinq carbones au caoutchouc naturel, comprenant des milliers d'unités isoprènes. Tous les terpenoïdes sont synthétisés par la condensation des unités d'isoprène (C5) et sont classifiés par le nombre de cinq unités carbonées présentes dans la structure centrale (Mahmoud *et al*. 2002).

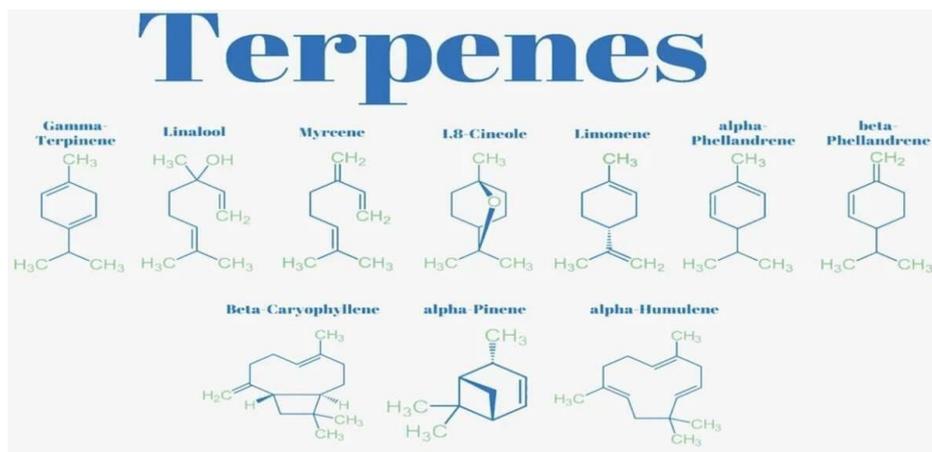
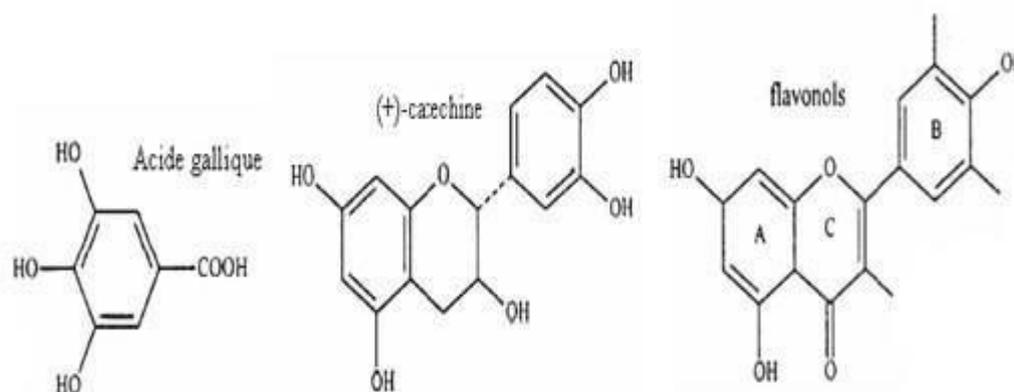


Figure 4 : Quelques exemples des structures des terpènes (Belguidoum, 2012).

I.3.1.2- Les composés phénoliques

La définition des composés phénoliques (Fig. 6) tient compte à la fois des éléments structuraux et de l'origine biogénétique des composés. Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle benzénique qui possède un groupe hydroxyle libre ou participe à une fonction ester, éther ou hétéroside (Krief2003). Le(s) cycle(s) aromatique(s) peut être synthétisé via la voie du shikimate ou via la voie de l'acétate, qui distingue les deux groupes de composés phénoliques. De plus, la voie du poly-acétate est impliquée chez les plantes supérieures pour les composés aromatiques obtenus par voie shikimate. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes)



(Krief 2003)

Figure 5 : Structure de quelques composés phénoliques (Wang et Mazza, 2002).

I.3.1.3.- Les alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent un groupe important de composés biologiques naturels (Fig. 6). Le premier alcaloïde a été extrait de l'opium, une plante terrestre appelée *Papaver somniferum* (Serturmer F, 1805).

Les alcaloïdes sont définis comme des composés basiques synthétisés par des organismes qui contiennent un ou plusieurs atomes d'azote hétérocycliques, sont dérivés d'acides aminés (à quelques exceptions près) et sont pharmacologiquement actifs. Le nom de la classe est directement lié au fait que la plupart des alcaloïdes sont des composés basiques (alcalins). Ce groupe est caractérisé par un grand nombre de formules structurales issues de différentes voies de biosynthèse et présentant des activités pharmacologiques très différentes (Briellmann et al., 2006).

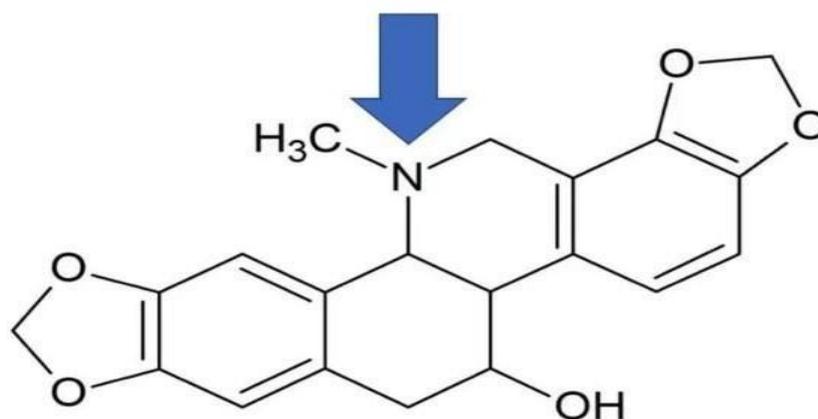


Figure 6 : structure générales d'un alcaloïde (Bernard C, 2018).

I.3.2.- Extraction de métabolites secondaires à partir des plantes

Il existe plusieurs méthodes d'extraction dont certaines ont été développées par des artisans parfumeurs bien avant l'avènement de la chimie moderne.

I.3.2.1.-Méthodes conventionnelles

Les méthodes d'extraction classiques consistent en des procédés d'extraction solide/liquide et sont souvent utilisées dans les laboratoires et l'industrie pour séparer les composés de la matrice solide. Ces méthodes sont basées sur l'utilisation de solvants appropriés pour extraire les composés en fonction de leurs différences de polarité. Ainsi le solvant est un facteur important. Les solvants les plus couramment utilisés comprennent l'éthanol, le méthanol, l'acétone et le dichlorométhane, souvent utilisés dans divers rapports avec l'eau (Wen et al., 2019).

Les autres facteurs qui affectent de plus les méthodes conventionnelles sont les propriétés de la matrice, le rapport solide-liquide, la température, la pression et le temps d'extraction (Wang and Weller, 2006). Les méthodes d'extraction les plus couramment utilisées comprennent, le soxhlet, la macération et l'infusion (Swamy and Akhtar, 2019).

a) Extraction au soxhlet

L'extraction Soxhlet est une technique courante et bien établie qui surpasse les autres techniques d'extractions conventionnelles, à l'exception de l'extraction des composés thermolabiles (Luque de Castro and Garcia-Ayuso 1998).

Dans le système Soxhlet, la matière végétale est placée dans une cartouche et remplie de solvant fraîchement concentré provenant d'un ballon de distillation. Lorsque le liquide atteint le débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la refoule dans le ballon de distillation, ramenant les solutés extraits au liquide en vrac. Dans le ballon, le soluté (soluté) est séparé du solvant par distillation (Fig. 7). Le soluté reste dans le flacon et le nouveau solvant retourne dans la couche solide. Cette opération est répétée jusqu'à l'extraction complète (Ben Amor B, 2008)

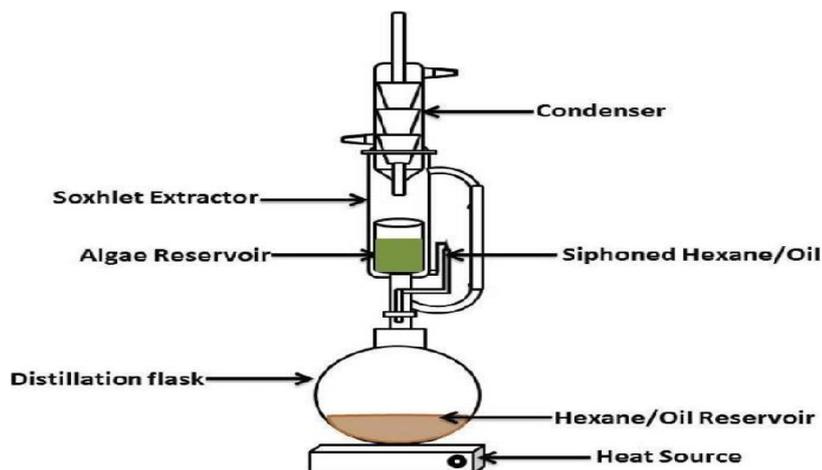


Figure 7: le principe de l'extraction au soxhlet (Samuel K T & Siisu S, 2017)

L'extraction Soxhlet dépend fortement des propriétés de la matrice solide et de la taille des particules, car la diffusion interne est souvent l'étape limitante du processus d'extraction (Luque-García and Luque de Castro, 2004).

b) Macération

La macération est une injection de solvant à froid. Cette procédure, généralement longue et souvent avec des rendements médiocres, et la seule méthode disponible pour l'extraction d'une gamme de molécules fragiles. Pour être efficaces, les durées de macération peuvent aller de 4 à 10 jours, cela peut présenter certains inconvénients, en matière de fermentation, ou de contamination bactérienne, surtout si le solvant utilisé est de l'eau. Ces phénomènes peuvent conduire à une dégradation rapide des molécules actives. Pour éviter ou réduire ces désagréments, la fumigation peut être réalisée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et, dans

certain cas, réfrigéré (Groubert 1984; Leybros and Frémeaux 1990).

c) Infusion

C'est une technique d'extraction classique, largement utilisée en médecine traditionnelle (Patra et al., 2018). Elle consiste à ajouter une petite de la matière végétale à un solvant à haute température, permettant à la solution d'être prête en peu de temps (Gamboa-Gomez ´ et al., 2017).

L'eau est souvent utilisé comme solvant et est généralement utilisée au point d'ébullition ou juste en dessous, avec des temps d'extraction allant de 5 à 60 minutes (Bastos et al., 2015; Coelho et al., 2016; Jim´enez-Moreno et al., 2018; Malca-Garcia et al., 2019; Rakotoniaina et al., 2018). Pour faciliter l'extraction des composés, le matériel végétal doivent être coupés en petits morceaux (Rakotoniaina et al., 2018). Cette méthode produit des extraits riches en glycosides et en huiles essentielles (Malca-Garcia et al., 2019). Cependant, il présente l'inconvénient d'utiliser une grande quantité de solvant (Tiwari, 2015). De plus, l'utilisation de températures élevées peut entraîner la dégradation de composés thermolabiles (Malca-Garcia et al., 2019).

I.3.2.2.- Les méthodes alternatives

Les méthodes d'extraction conventionnelles présentent les avantages d'un faible coût et d'une facilité d'utilisation. Cependant, ils utilisent souvent une grande quantité de solvant, ce qui nécessite une étape d'évaporation pour la récupération, mais est difficile à éliminer complètement. De plus, il existe une possibilité de décomposition thermique des composants bioactifs en raison de la température élevée du solvant pendant une longue durée d'extraction. Pour tenter de pallier les inconvénients inhérents aux techniques conventionnelles, des méthodes d'extraction alternatives ont été développées (Tiwari, 2015 ; Wen et al., 2019).

Les principales méthodes alternatives comprennent l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction par liquide sous pression, l'extraction par fluide supercritique, les liquides ioniques, les solvants eutectiques profonds et l'extraction assistée par enzyme (Ali et al., 2019).

Les techniques d'extraction alternatives peuvent minimiser ou éliminer l'utilisation de solvants organiques et fonctionnent souvent à basse température lors de l'extraction, ce qui laisse les composés extraits stables en matière de pureté (Tiwari, 2015). De plus, les méthodes alternatives sont souvent plus efficaces, avec un temps d'extraction et une consommation d'énergie réduits, et un rendement et une qualité accrus des produits obtenus (Santos et al., 2019).

a) Extraction assistée par ultrasons

Les ondes ultrasonores, lorsqu'elles traversent un milieu, provoquent des cycles d'expansion et de compression dans les molécules qui composent ce milieu. Ce changement de pression alterné provoque la formation, l'expansion et l'effondrement de bulles dans le milieu liquide, un

phénomène connu sous le nom de cavitation (Ali et al., 2019; Selvamuthukumaran and Shi, 2017). L'extraction assistée par ultrasons implique l'utilisation d'ondes ultrasonores, soit dans une étape de prétraitement, soit lors d'une extraction solide/liquide (Tiwari, 2015), de sorte que la cavitation favorise la libération des composés souhaités en perturbant le cytosquelette des cellules végétales (Meullemiestre et al., 2014 ; Wen et al., 2019). Les ultrasons permettent également une plus grande pénétration du solvant dans la matrice de l'échantillon, augmentant la surface de contact entre les phases solide et liquide. En conséquence, le transfert de chaleur et de masse est augmenté et le soluté diffuse plus rapidement de la phase solide dans le solvant (Meullemiestre et al., 2016). L'extraction assistée par ultrasons s'est révélée efficace pour obtenir divers produits, tels que des huiles essentielles, des polysaccharides, des protéines, des colorants, des pigments et des molécules bioactives (Santos et al., 2019).

b) Extraction assistée par micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques avec des fréquences comprises entre 0,3 et 300 GHz, et dans les systèmes commerciaux sont couramment utilisés à 2,45 GHz (Selvamuthukumaran et Shi, 2017 ; Zwingelstein et al., 2020). L'extraction assistée par micro-ondes est basée sur le mécanisme physique de la polarisation ionique et de la réorientation des molécules. En présence d'un champ électrique généré par un rayonnement micro-onde, les molécules polaires commencent à osciller de sorte que les dipôles de la molécule sont continuellement alignés avec le champ électrique (Ali et al., 2019). Cette vibration des molécules provoque un échauffement uniforme du matériau (Wang et Weller, 2006). En raison de la chaleur, une grande pression apparaît à l'intérieur de la paroi cellulaire de la plante, provoquant sa rupture. En conséquence, les composants intracellulaires sont libérés dans le milieu d'extraction et la pénétration du solvant dans la matrice végétale est facilitée, ce qui entraîne un processus d'extraction plus rapide (Ali et al., 2019). Les solvants à faible viscosité offrent un avantage au processus d'extraction, car la plus faible viscosité du milieu facilite la rotation moléculaire qui favorise le mécanisme de chauffage par micro-ondes (Selvamuthukumaran et Shi, 2017).

En général, l'EAM est réalisée à travers l'un des systèmes suivants : une cuve d'extraction fermée à pression et température contrôlées, ou une cuve ouverte à pression atmosphérique. Le système scellé EAM est couramment utilisé pour l'extraction dans des conditions extrêmes, telles que des températures et des pressions d'extraction élevées. En général, l'EAM est réalisée à travers l'un

des systèmes suivants : une cuve d'extraction fermée à pression et température contrôlées, ou une cuve ouverte à pression atmosphérique. Le système scellé EAM est couramment utilisé pour l'extraction dans des conditions extrêmes, telles que des températures et des pressions d'extraction élevées (Wang and Weller, 2006).

Chapitre II :
Matériel et méthodes

II.1.- Objectif

L'objectif de notre travail réalisé au sein du laboratoire de recherche de Biotechnologie Environnement et Santé de l'université de Blida1 est de tester le pouvoir insecticide de l'extrait méthanolique de la Menthe citronnée *Mentha citrata* sur le taux de mortalité du Coléoptère rouge de la farine *Tribolium castaneum*. Pour cela, notre protocole expérimental est organisé comme suite :

- ✓ Préparation de l'extrait méthanolique à partir des feuilles sèches de la *Mentha citrata*.
- ✓ Effectuer l'identification du *Tribolium castaneum*.
- ✓ Réalisation des bio-essai on utilisant des dosages différents de l'extrait.
- ✓ Observation et étude des taux de mortalité.

II.2.-Matériel

II.2.1.- Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par la Menthe citronnée *Mentha citrata* (Fig. 8) dont les parties aériennes de cette plante sont utilisées comme principes actifs. La Menthe citronné a été récoltée en Avril et en Mai au niveau de la wilaya d'Alger près d'Oued smar (36° 41' N., 3° 08' E.). Les feuilles de cette plante sont séchées à l'ombre, à une température ambiante et conservées dans des sacs en papier loin de toute humidité pour d'éventuelle préparation de l'extrait méthanolique (Fig. 9).



Figure 8 : La Menthe citronnée *Mentha citrata* (Originale, 2022).



Figure 9 : Séchage des feuilles de *Mentha citrata* (Originale, 2022)

II.2.2.- Matériel animal

Cette étude est conduite sur les individus de *T. castaneum*. Ces derniers ont été prélevés à partir de la farine et les grains de blé déjà infestés (Fig. 10). Les échantillons ont été portés à partir des aires de stockage appartenant à la Coopérative régionale des céréales et légumes secs (CCLS) d'El Affroun (Wilaya de Blida).



Figure 10: Farine du blé contaminé par le *Tribolium castaneum* (originale, 2022).

II.2.3.- Matériel du laboratoire

Le matériel utilisé au laboratoire pour la réalisation de la présente étude est donné comme suite :

- . Loupe binoculaire pour l'observation de l'insecte *T.castaneum*.
- . Tube à essais pour la préparation des doses de l'extrait méthanolique.
- . Balance pour la pesée des produits et du matériel biologique.
- . Broyeur pour broyer les feuilles sèches de la Menthe citronnée et les remettre en poudre.

- Rotavapeur est utilisé pour l'évaporation à sec du filtrat.
 - Gants fins et un masque simple lors de la manipulation des produits chimiques.
 - Flacon en verre de couleur sombre pour la conservation de l'extrait méthanolique.
 - Bocal en verre pour les élevages en masse de *T.castaneum*.
 - Un autre type de matériel est utilisé comme accessoires tels que : micropipette, pipette pasteur, ballon, Micro seringue (1ml), spatule, pince, des béchers, erlenmayer, entonnoir en verre, des étiquettes, des boîtes de Pétri en plastique de 9 cm, papiers filtres de type Wattman, papier aluminium, papiers films.
- Produit chimique :** Nous avons choisi pour notre étude le méthanol dans le but de la macération de la poudre végétale, de la préparation des dilutions et l'utilisé ainsi comme témoin grâce à l'absence de l'activité insecticides.

II.3.- Méthodes

II.3.1.-Méthodes d'élevage et d'identification de *Tribolium castaneum*

II.3.1.1.- Identification morphologique de *Tribolium castaneum*

Le Coléoptère rouge de la farine a été décrit pour la première fois par Herbest(1797) à Berlin. Cette identification est basée sur les critères morphologiques et les clés d'identification selon Herbest(1797), la base des données ITIS (MontegratedTaxonomic Information Système) et par iBeetle base.

Le *Tribolium* appartient à la famille des Tenebrionidae qui forme l'une des plus grandes familles du règne animal (Fig. 11). Leur classification consiste à étudier la morphologie de l'adulte, de la larve aussi et de nombreux signes anatomiques.



Figure 11 : Le Coléoptère rouge de la farine *Tribolium castaneum* (Originale, 2022)

✚ Les critères morphologiques de *Tribolium castaneum*

a- Adulte

- Insectes de moins de 10 mm de longueur.
- Largeur du corps inférieure à 1,5 mm.
- La couleur est brun rougeâtre.
- Les yeux sont divisés en faces ventrales selon leur largeur.
- La tête et le thorax supérieur sont couverts de petites perforations.
- Les ailes (élytre) sont striées sur toute leur longueur.
- Antennes agrandies à 14 extrémités, les trois derniers segments sont plus larges que le segment précédent.
- Des yeux petits, noirs et ovales, il n'y a pas de crête au-dessus des yeux, leur distance ventrale est approximativement égale à leur propre largeur de vue.
- Cuticule de la tête et pronotum micro-réticulé
- Dimorphisme sexuelle : à la base du fémur antérieur, les males ont un pilifère rond et poilue, ce que les femelles n'ont pas

II.3.1.2.- Elevage de *T. castaneum*

L'élevage de l'insecte est maintenu dans les conditions ambiantes. Les souches des échantillons étaient maintenues en élevage de masse dans des bocaux en verre qui contient 250g de la farine infestée. Les individus de *Tribolium castaneum* ont été gardés dans un

Placard à l'ombre dans une température ambiante (varie entre 24 et 30°) et une humidité relative pendant une période donnée de 3mois (de mai à juillet). (Fig. 12).



Figure 12 : Elevage de masse des individus de *T.castaneum* (Originale, 2022).

II.3.2.- Procédure d'extraction de l'extrait méthanolique de *Mentha citrata*

La partie aérienne des plantes testées a été lavée à l'eau et séchée à l'obscurité pendant 21 jours dans un endroit bien aéré à une température ambiante. Les feuilles isolées du reste de la plante sont conservée dans des sachets kraft propres.

- Les feuilles de *Mentha citrata* a été réduite en poudre fine pour préparer l'extrait méthanolique.
- 30g (10×3) de poudre végétale sont macérés avec 300 ml de méthanol pendant 72h à température ambiante (Fig. 13).



Figure 13: Procédure de macération de la plante dans le méthanol (originale, 2022).

- Filtration et récupération du filtrat (Fig. 14).



Figure 14: Filtration et récupération de filtrat (Originale, 2022).

Le filtrat est évaporé à sec sous pression réduite à 50°C. Au Rotavapeur et le produit est récupéré sur les parois de ballon d'évaporation (Fig. 15).



Figure 15: Evaporation à sec par le rotavapeur (Originale).

L'extrait obtenu a été mis dans un flacon sombre à l'air libre pendant 72h pour le rendre pâteux (Fig. 16).

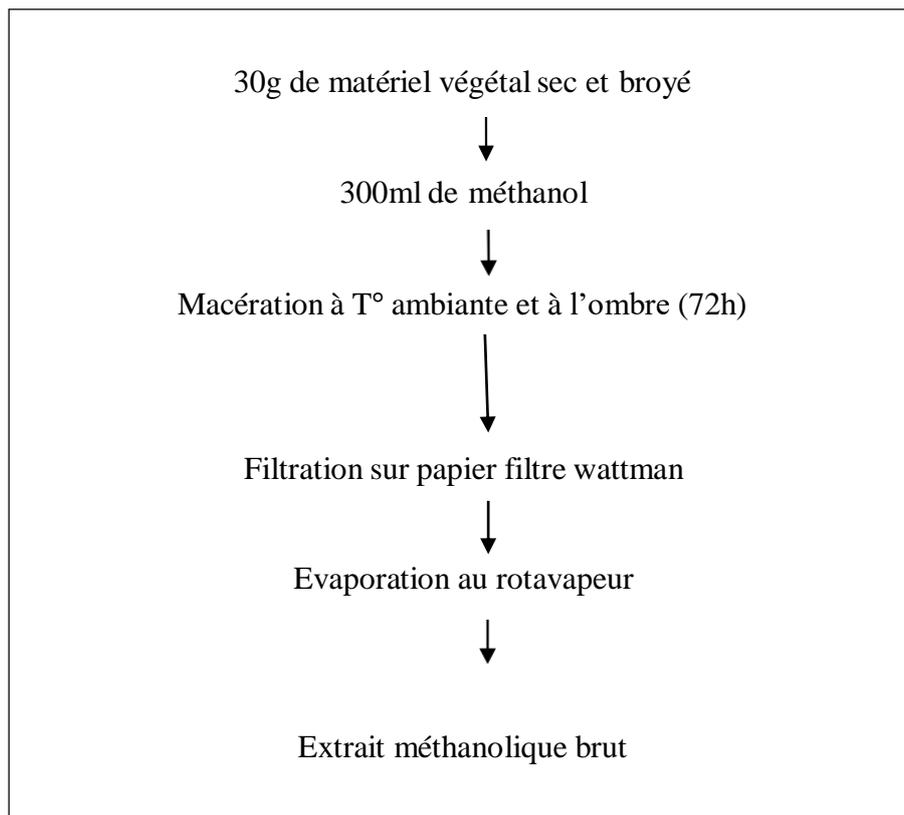


Figure 16: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique.

II.3.3.- Rendement d'extraction (RE)

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage de poids des extraits méthanoliques par rapport au poids de la matière végétale première utilisée pour l'extraction. Il est exprimé en appliquant la formule suivante :

$$RE(\%) = [\text{Poids d'extrait méthanolique (g)} / \text{Poids de la matière végétale (g)}] \times 100$$

II.4.-Test de toxicité

Pour l'étude de l'effet insecticide des extraits méthanoliques par contact, la technique d'application consiste à pulvériser directement sur 10 adultes du Coléoptère rouge de la farine. Ces derniers sont déposés dans une boîte Pétri tapissée du papier filtre par quatre doses de l'extraits méthanoliques formulées (200mg/ml, 100mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml). Les essais sont répétés trois fois pour chaque dose. Les tests témoins menés dans des boîtes de Pétri contenant du papier Wattman traité uniquement avec le méthanol. Le taux de mortalité est calculé après 1h, 2h, 24 h, 48h, 72 h, 96h, 120h, 144h et 168 heures (Fig. 17).

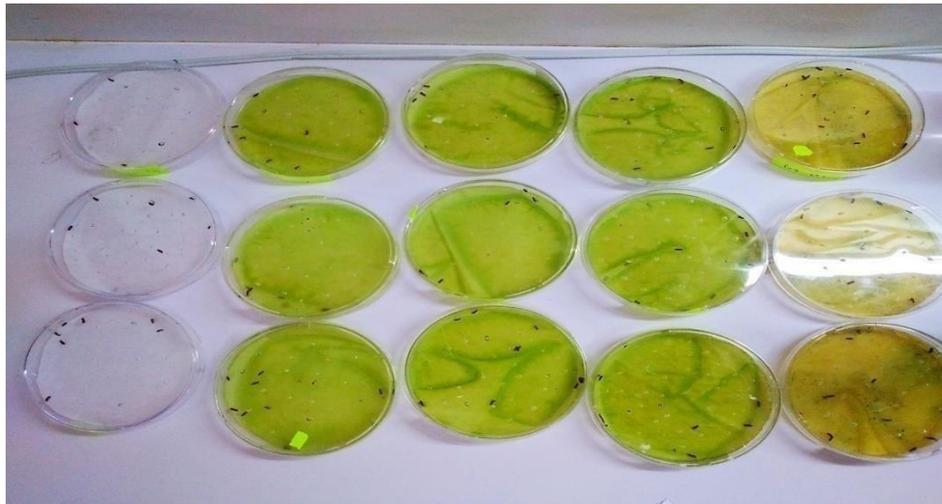


Figure 17 : Réalisation expérimentale pour l'étude de la toxicité des extraits de *M.citrata* sur les individus de *Tribolium castaneum* (Originale, 2022).

II.4.1.- Taux de mortalité

La mortalité est le premier critère du jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique. Le pourcentage de la mortalité observée chez les adultes témoins et traités par l'extrait végétal est estimé en appliquant la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = [\text{Nombre de morts}/\text{Nombre total des individus}] \times 100$$

II.5.- Calcul de la DL50 et la TL50

II.5.1.- La DL50 (dose létale 50)

C'est la dose qui entraîne la mort de la moitié (50 %) des animaux de laboratoire exposés au toxique étudié. Il est couramment utilisé dans la littérature classique comme mesure de la toxicité aiguë d'un produit chimique. Plus la DL50 est élevée, plus la toxicité aiguë est faible. Un produit chimique très toxique (avec une faible DL50) considéré comme violent.

La dose létale 50, déduite graphiquement à partir de la droite de régression des Probits qui correspond au pourcentage de mortalité observée en fonction des logarithmes des doses thérapeutiques représentant la fonction $y = f(x)$. Où y représente la mortalité à un temps constant en fonction des doses croissantes.

II.5.2.- La TL50 (temps létale 50)

Temps d'exposition à une concentration fixe de gaz toxique ou insecticide entraînant la mort de 50% dans une population d'une espèce donnée.

La TL50 déduite graphiquement de la droite de régression des Probits correspondant au taux de mortalité observée en fonction des logarithme de temps de traitement représentant la fonction $y = f(t)$. Où y représente le taux de mortalité à dose constante en fonction de l'augmentation du temps.

Chapitre III :
Résultats et discussion

III.1.- Résultat

Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats qui concernent le taux de mortalité provoquée par l'extrait méthanolique chez les adultes de *Tribolium castaneum* ainsi que la démonstration des DL50 ; DL90 ; TL50 ; TL90.

III.1.1.- Confirmation de l'espèce étudiée *Tribolium castaneum*

✚ Adulte

L'étape de confirmation de l'espèce *T. castaneum* est nécessaire. La farine et le blé sont ramenés directement de la CCLS afin d'augmenter la probabilité que l'espèce étudié soit *T. castaneum*. D'après Maisonneuve et Larose (1985), les tailles adultes sont de 2,3 à 4,4 mm (Fig.18, 19 et 20). Uniformément brun rougeâtre à brun foncé, étroit, allongé, rectangulaire, thorax plus large que la long, élytre à larges rayures verticales. L'antenne se compose de 11 articles, les trois derniers se terminant par une massue.



Figure 18 : La partie ventrale de *Tribolium castaneum* vue sous la loupe binoculaire (×20), (Originale, 2022).



Figure 19 : Observation ventrale de la tête, des yeux et des antennes de *T. castaneum* vue sous la loupe binoculaire ($\times 40$), (Originale, 2022).



Figure 20 : Observation de la face dorsale de *Tribolium castaneum* vue sous la loupe binoculaire ($\times 20$), (Originale, 2022).

✚ La larve du Coléoptère rouge de la farine

- Les larves sont de couleur blanc jaunâtre, fines, cylindriques et à poils fins.
- La tête est brune claire et la dernière partie de l'abdomen a deux structures pointues sombres pointant vers le haut (Fig. 21 et 22).



Figure 21 : Observation de la larve de *T. castaneum* vue sous la loupe binoculaire (×40)
(Originale, 2022)



Figure 22 : Observation du dernier segment de l'abdomen qui a deux structures sombres et pointues retournées vue sous la loupe binoculaire (×40), (Originale, 2022).

La pupe

- Les pupes n'ont pas de cocons, sont blanc jaunâtre et virent ensuite au brun (Fig. 23).



Figure 23 : Observation de la nymphe de *T. castaneum* vue sous la loupe binoculaire ($\times 40$), (originale, 2022)

III.1.2.- Les paramètres biologiques observés de la population de *Tribolium castaneum*

III.1.2.1.- La densité larvaire

Comme chez tous les coléoptères, *Tribolium castaneum* est un insecte qui subit une métamorphose complète dont leurs larves sont mobiles et se nourrissent des denrées stockées. Au début de l'élevage, nous avons constaté une absence des larves, et après 20 jours de surveillance, il y a eu une apparition de ces derniers environ 300 larves, ce qui prouve qu'il y'avait un accroissement entre les adultes ainsi que la farine est contaminée par les œufs de *T. castaneum* (Fig. 24).



Figure 24 : Observation des larves de *Tribolium castaneum* (originale, 2022).

III.1.2.2.- La densité des adultes

La densité de population des adultes dans les bocaux de verre est estimée de 220 mâles et femelles. Ce nombre a augmenté jusqu'à ce qu'il atteigne 562 adultes après 35 jours (Fig.25).



Figure 25 : Observation des adultes de *Tribolium castaneum* (originale, 2022).

III.1.2.3.- Les mortalités des adultes

Il n'y avait pas une mortalité significative, juste des dizaines qui ne dépassent pas 20 individus. On peut supposer que cette cessation de vie est due à un arrêt biologique des fonctions de vie chez l'insecte.

III.1.2.4.- Cycle de développement de l'insecte étudié

Selon Hagstrum et Subramanyam (2006), Bucher (2009), la période de développement moyenne de l'œuf à l'adulte chez le *Tribolium castaneum* est de 41,8 jours à 25° C. à 21,7 jours à 35,5° C. Dans nos conditions, la température se varie entre 24° C et 30° C. avec une humidité relative. Comme tous les coléoptères, *Tribolium castaneum* est un insecte à métamorphose complète (holométabole) ; Œuf, 4 stades larvaires mobiles, une nymphe immobile et un adulte. La durée du cycle de développement, de l'œuf à l'adulte est en moyenne 35 jours dans la farine (Fig. 26) et dans nos conditions ambiantes, la femelle pond des œufs en vrac qui s'éclosent et libèrent des larves en couleur blanc jaunâtre, leurs taille augmentent avec le temps et circulent librement dans la denrée infestée ou elles se nymphosent et après quelques jours, l'apparition des adultes.

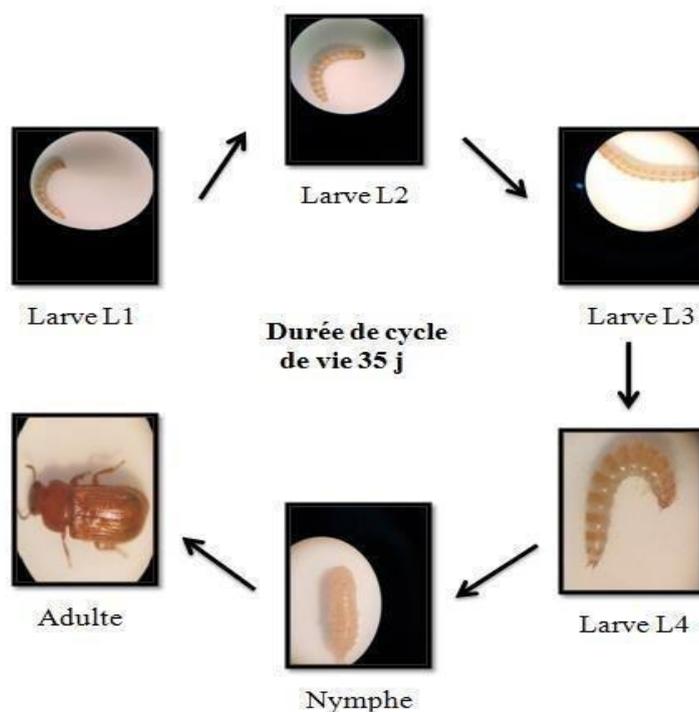


Figure 26 : cycle de vie de *Tribolium castaneum* sur la farine dans les conditions naturelles (Originale, 2022).

III.1.3.- Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction dépendent de l'espèce végétale, des organes utilisés pour l'extraction, des conditions de séchage et du type de solvant utilisé lors de l'extraction ou du fractionnement (Tab. 1). Le rendement d'extraction est le pourcentage d'ingrédient actif dissous dans le solvant organique utilisé pour l'extraction basé sur le poids de la plante utilisée pour l'extraction (Kemassi, 2014). Il est obtenu par la formule suivante :

$$R (\%) = m1/m2 \times 100$$

-. $m1 = 7,02 \text{ g} ; m2 = 30 \text{ g}$

-. $R = 7,02/30 \times 100$

-. $R = 23,40\%$

Tableau 1 : Valeur du rendement d'extraction en principe actif dissout à partir des feuilles.

Espèce végétal	Organe utilisé	Couleur de l'extrait	Rendement (%)
<i>Mentha citrata</i>	Feuilles	Vert foncé	23,40

III.1.4.- Calcul de la toxicité de l'extrait méthanolique de *M. citrata* par contact chez *T. castaneum*

III.1.4.1.- Toxicité par contact

Le taux de mortalité des adultes de *Tribolium castaneum* traité par l'extrait méthanolique de *Mentha citrata* est présenté dans le tableau 2. Il apparait des variations remarquables dans le taux de mortalité entre les boîtes traitées par différentes concentrations soit 25mg/ml ; 50mg/ml ; 100mg/ml ; 200mg/ml par rapport au témoin.

Les mortalités ont été comptées après 1h, 2h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h, 144h, 168h.

On note que dans les deux premières heures (2h), les mouvements des insectes traités sont paralysés sous l'effet de l'extrait méthanolique par rapport au témoin, ce qui aboutit que les mortalités réelles apparaissent après 24 h (Tab. 2).

La plus faible dose (D1) a provoqué 23,33% de mortalité après 24h, il s'avère qu'au fil du temps le taux de mortalité augmente et atteint un taux de 63,33% après 168h. A la plus forte dose (D4), nous avons enregistré un taux de mortalité de 50% après 24h et 83,33% après 168h (Tab.2, Fig. 27).

Tableau 2 : Evaluation de la mortalité observée de *Tribolium castaneum* adulte sous l'action de différentes doses d'extraits méthanolique de *Mentha citrata*.

	24 heures	48 heures	72 heures	96 heures	120 heures	144 heures	168 heures
T. M. (D1)	23,33±0,58	26,66±1,15	30±1	36,66±0,58	43,33±1,155	53,33±0,58	63,33±1,155
T. M (D2)	26,66±0,58	30±1	36,66±1,155	40±1,73	46,66±2,08	56,66±1,15	66,66±1,53
T. M (D3)	30±0	36,66±0,58	36,66±0,58	46,66±1,53	56,66±1,53	66,66±1,53	73,33±1,15
T. M (D4)	50±0	53,33±0,58	56,66±0,58	60±1	66,66±0,58	76,66±0,58	83,33±0,58
Témoin	00	00	00	00	00	00	00

T.M. : Taux de mortalité

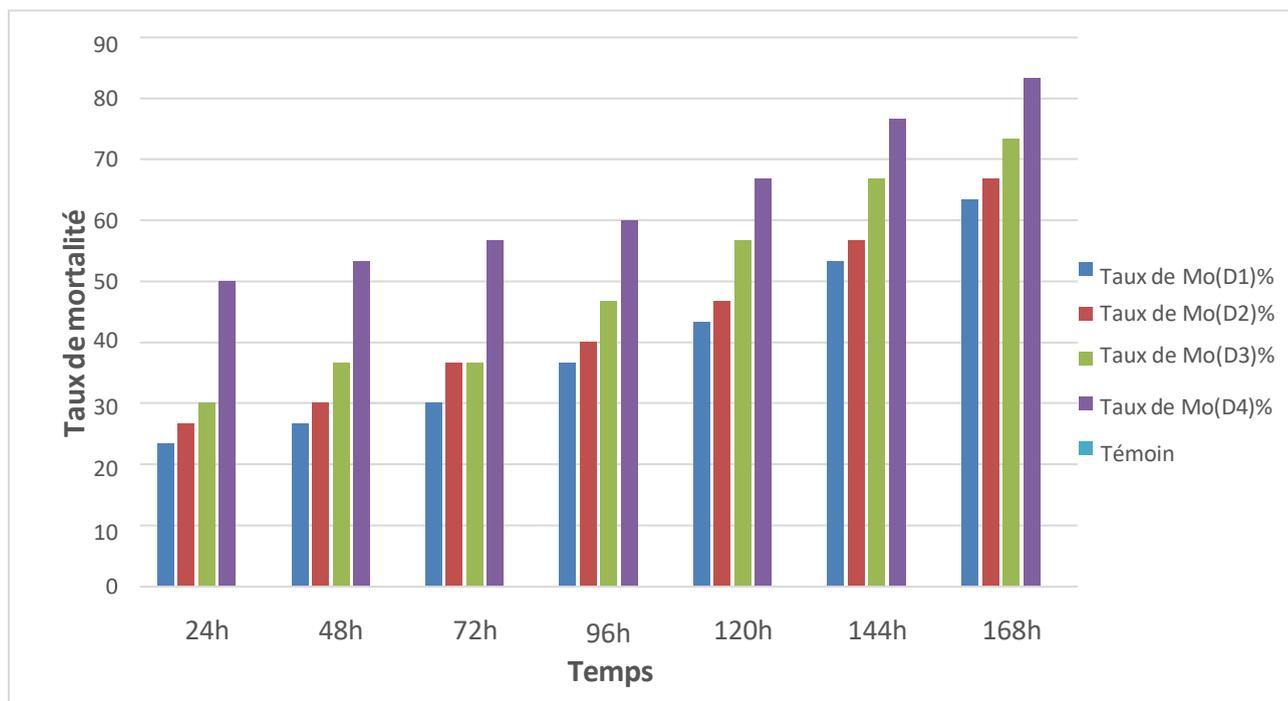


Figure 27 : Variation de taux de mortalité observé chez les adultes de *Tribolium castaneum* témoins et traités exposés à l'extrait méthanolique de *Mentha citrata* par contact.

Les résultats affichent que l'extrait méthanolique était toxique pour les adultes de *Tribolium castaneum*, (Fig. 27; Tab. 2). Il convient de noter que le taux de mortalité dépend de la concentration et le temps d'exposition est positivement corrélé. La valeur rapportée pour les lots témoins est inférieure à la valeur enregistrée pour les lots traités. Il n'y a pas de taux de mortalité dans la parcelle témoin.

L'effet de l'extrait testé commence généralement après 24 heures du début de traitement. Il est également à noter qu'une exposition prolongée (168 h) des adultes aux différentes concentrations de l'extrait induit une mortalité de 50% au niveau de la dose 200 mg/ml après 24 heures.

Le suivi chronologique de l'effet de l'extrait de *M. citrata* à 25mg/ml (Fig. 27 ; Tab. 2) montre un accroissement du taux de mortalité de 23,33% après 24 h jusqu'à 63,33% à 168 heures. En effet, la mortalité pour les doses 50mg/ml ; 100mg/ml ; 200mg/ml enregistrés de 26,66% ; 30% ; 50%. Ce développement s'étend à 66,66% ; 73,33% ; 83,33% respectivement.

On peut conclure d'après ces résultats, la rémanence du toxique reste active pendant toute la durée de l'expérimentation (168 heures).

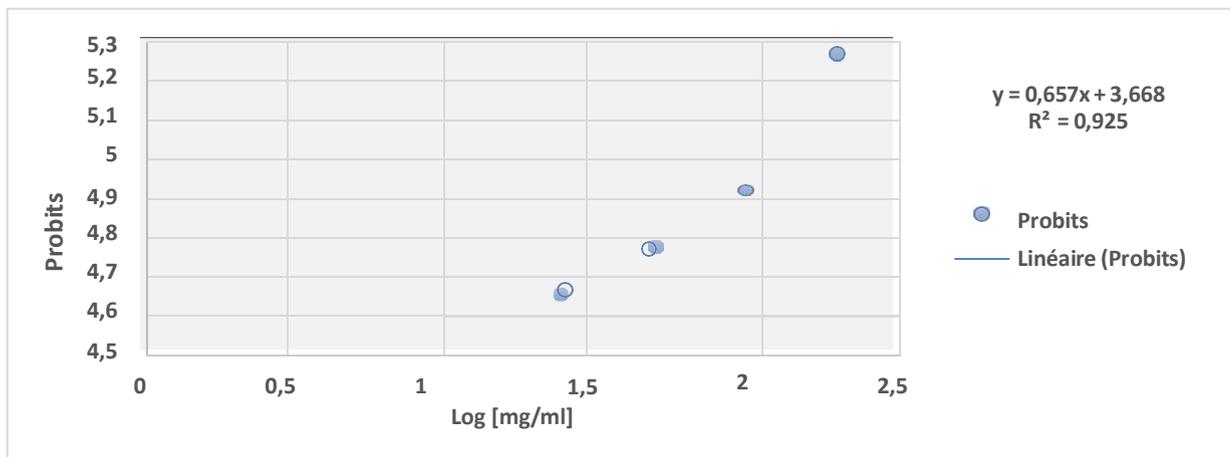
III.4.1.2.- Calcul de la DL50

Afin de déterminer la dose létale DL50 pour l'obtention de 50% de mortalités, nous avons procédé à la conversion de la mortalité observée en Probits et à la conversion de la dose appliquée en logarithme décimal. Ceci nous permet d'obtenir l'équation de la droite de Régression du log-dose en fonction du Probits (Cavelier, 1976).

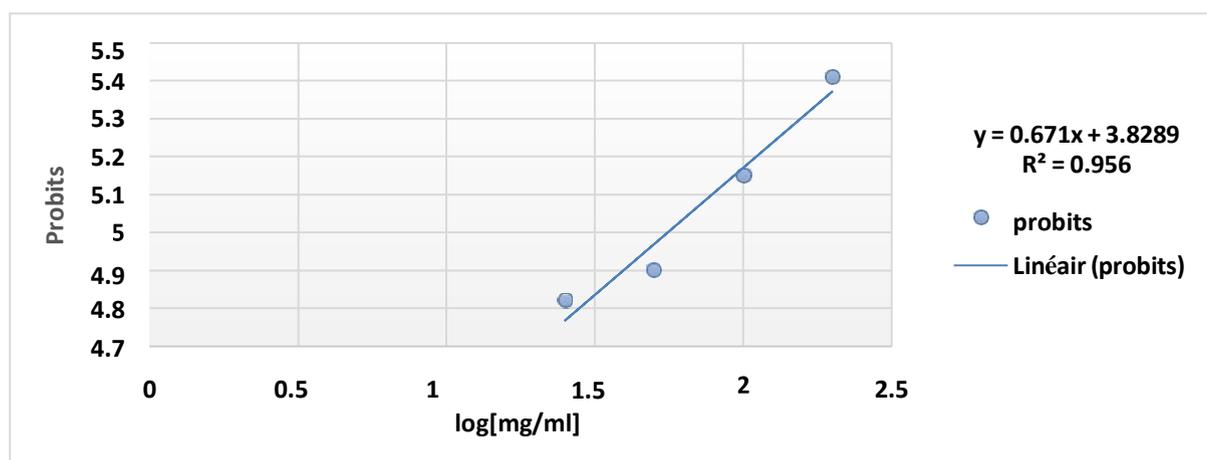
Après administration, par contact direct de l'extrait méthanolique aux différents lots de 10 insectes de *Tribolium castaneum* aux doses comprises entre 25 mg /ml ; 50 mg /ml ; 100 mg/ml et 200 mg /ml les doses létales 50 ont été révélés pour 2 jours (après 96h et après 120 h) et consignés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Droites et coefficients de régression et les valeurs des concentrations létaux DL50 évalués pour 2 jours.

Temps	Equation de régressions	Coefficients de régressions	Concentration létale [mg/ml]
			DL50
96h	$Y = 0,6577x + 3,6685$	$R^2 = 0,925$	105,79
120h	$Y = 0,671x + 3,8289$	$R^2 = 0,956$	55,62



A- Effet de la dose de l'extrait méthanolique de *Mentha citrata* sur les adultes de *T. castaneum* après 96h d'exposition



B- Effet de la dose de l'extrait méthanolique de *Mentha citrata* sur les adultes de *T. castaneum* après 120h d'exposition

Figure 28 : Taux de mortalité des *T. castaneum* en fonction du logarithme des doses de *M. citrata* après 96 et 120h de traitement.

Les résultats des doses létales sont présentées dans le tableau 3 et la figure 28, il est noté que la concentration (DL50) la plus élevée est égale à 105,79 mg/ml pour une durée d'exposition de 96h avec $Y = 0,6577x + 3,6685$; $R^2 = 0,925$. Alors que la DL50 la plus faible égale à 55,62 mg/ml durant 120h avec $Y = 0,671x + 3,8289$; $R^2 = 0,956$.

Les valeurs affichées pour 96 et 120 heures montrent que quel que soit le temps, il y'a une corrélation significative entre les mortalités des adultes et les doses appliqués.

III.4.1.3.- Calcul de TL50 et TL90

Les temps létaux (TL50 et TL90) sont calculés à partir de la droite de régression des Probits, correspondants aux pourcentages des mortalités observées en fonction des logarithmes des temps de traitement. Les données sont regroupées en classes de temps dans la présente étude en jour.

Tableau 4: Droites et coefficients de régressions et valeurs de temps létaux (TL50 ; TL90) évaluées pour les 4 concentrations.

Concentration	Equation de régression	Coefficient de régression (R ²)	Taux létaux TL50	Taux létaux TL90
25mg/ml (D1)	$y=1,1871x + 2,4426$	R ² =0,8214	5jrs 22h	71jrs 4h
50mg/ml (D2)	$y=1,1415x + 2,6326$	R ² =0,8409	4jrs 22h	65jrs 7h
100mg/ml (D3)	$y=1,2954x + 2,5013$	R ² =0,8161	3jrs 12h	34jrs 10h
200mg/ml (D4)	$y=1,0141x + 3,4272$	R ² =0,7451	1jr 11h	27jrs 2h

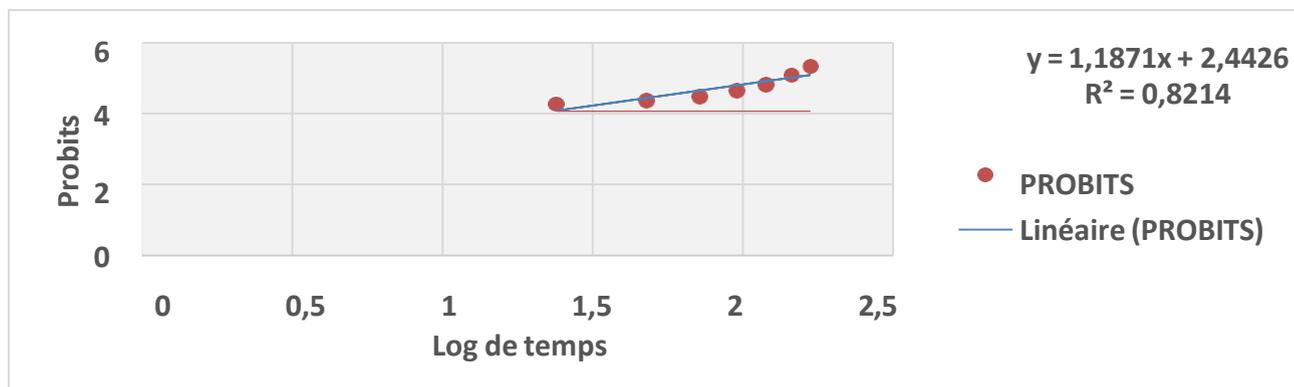


Figure 29 : Action de l'extrait de *M. citrata* à la concentration 25mg/ml dans le temps sur *T. castaneum*.

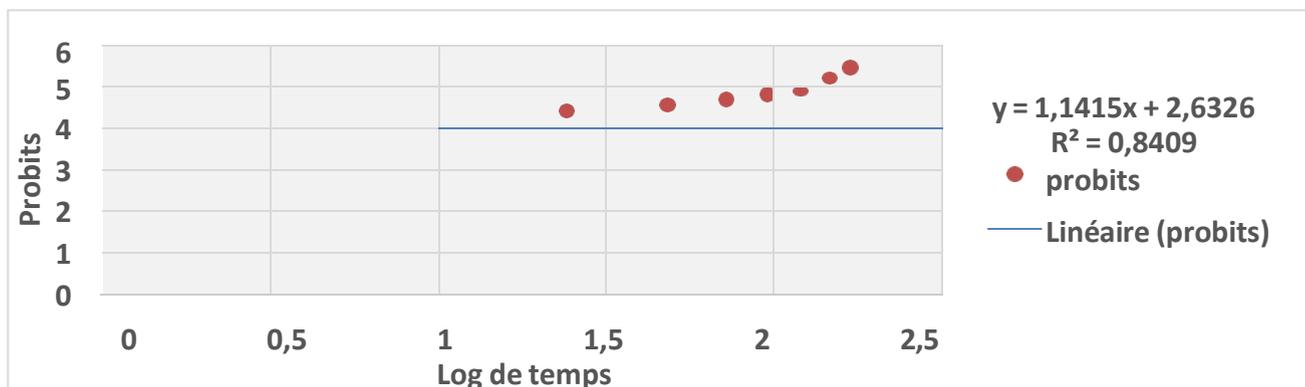


Figure 30 : Action de l'extrait de *M. citrata* à la concentration 50 mg/ml dans le temps sur *T. castaneum*.

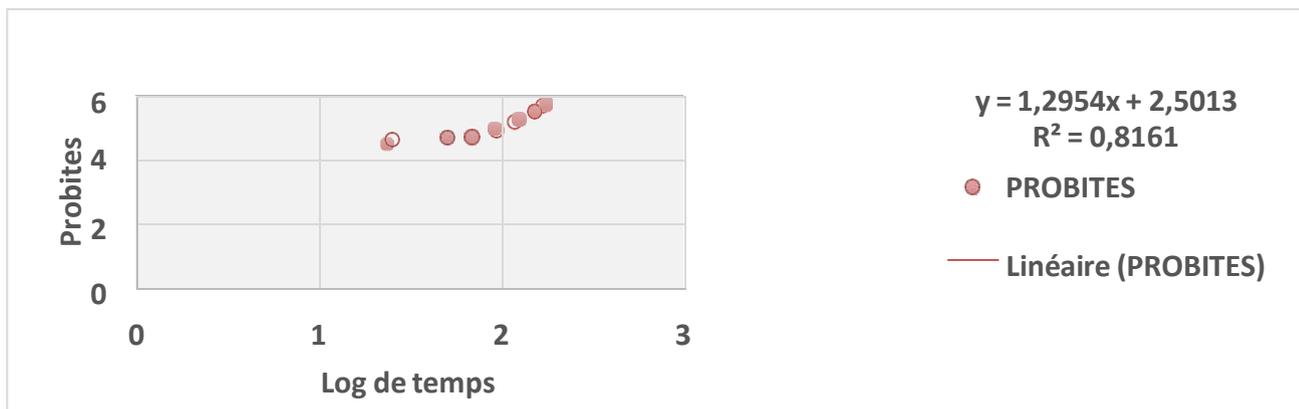


Figure 31 : Action de l'extrait de *M.citarata* à la concentration 100mg/ml dans le temps sur *T. castaneum*

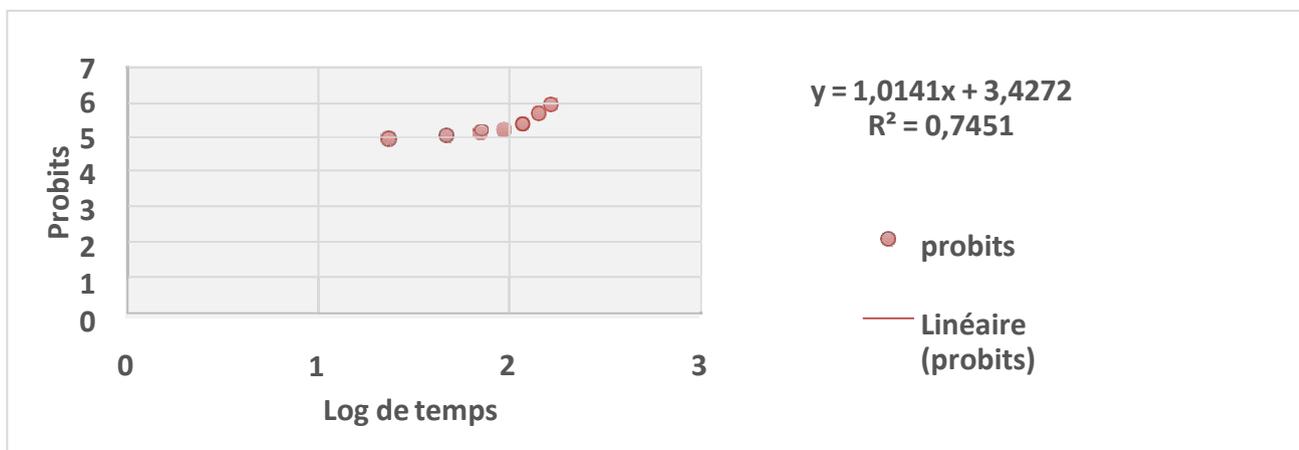


Figure 32 : Action de l'extrait de *M.citarata* à la concentration de 200mg/ml dans le temps sur *T.castaneum*.

L'analyse des résultats (Tab. 4 et Fig. 29 à 32) permet de ressortir que les valeurs de la TL50 et la TL90 se diminuent avec l'augmentation de la concentration. Plus la dose est forte plus le temps est réduit.

La TL50 la plus long est de 5jrs 22h enregistrés pour la dose (1), la plus faible (25 mg /ml) avec une TL90 = 71jrs 4h et une droite de régression $y=1,1871x + 2,4426$; $R^2=0,8214$. Alors que les temps les plus courts sont de 1 jour 11h enregistré pour la dose (4) la plus forte (200 mg/ml) dont la TL90 égale à 27jrs 2h avec une droite de régression $y=1,0141x + 3,4272$; $R^2=0,7451$.

III.2.- Discussion

Les plantes peuvent produire une grande variété de produits naturels et représentent une énorme quantité de sources moléculaires qui peuvent être utilisés par l'homme dans divers domaines comme la pharmacologie, l'industrie alimentaire, et même l'agriculture liée à la protection des cultures (Augeret Thibout, 2002). Le but de l'extraction est de désorber la molécule d'intérêt du site actif de la matrice végétale, elle est essentielle pour déterminer le type et la quantité des molécules extraites et par conséquent le succès de l'étape suivante. L'extraction des composés naturels se fait généralement du type solide-liquide. Les méthodes dites traditionnelles telles que la macération, l'hydrodistillation, l'extraction par percolation ont été utilisées et considérées comme la technique de choix pour extraire les composés naturels (Michel, 2011). L'utilisation du bon solvant est l'un des facteurs clés pour une extraction efficace des composés biochimiques d'intérêt. Les solvants polaires (méthanol, éthanol...) conviennent à l'extraction des composés hydrophiles (Sasidharan *et al.*, 2011). Le méthanol est considéré comme l'un des solvants organiques les plus efficaces pour extraire les composés phytochimiques précieux du matériel végétal (Parekh *et al.*, 2006). Il extrait de grandes quantités de composés phénoliques, terpéniques et alcooliques connus comme agents de lutte biologique (Bogolitsyn *et al.*, 2019).

A la lumière des résultats obtenus, il apparaît que les métabolites secondaires de l'extrait méthanolique de *Mentha citrata* ont un effet insecticide intéressant contre les adultes de *Tribolium castaneum*. Ces métabolites secondaires sont représentés dans trois familles de composés les terpènes ou isopropanoïdes, les composés phénoliques et les hétérosides et les alcaloïdes (François *et al.*, 2012). Plusieurs scientifiques ont confirmé l'activité des extraits et leurs composés au niveau de l'insecte, selon Alqethami et Aldhebiani(2021), les alcaloïdes sont des sédatifs connus et peuvent gravement endommager le système nerveux des insectes. Les terpènes inhibent généralement la ponte et le développement de divers stades larvaires des insectes (Kouninki *et al.*, 2007). Singh et Kaur (2018) ont présenté que ces métabolites secondaires et d'autres molécules bioactives affectent directement la croissance et la reproduction des ravageurs. Ils affectent la flore intestinale des insectes et réduisent leur capacité digestive. Les saponines perturbent la muqueuse des cellules muqueuses intestinales en raison de leur capacité de perméabilité membranaire. Ils ont une puissante activité insecticide et provoquent une cytotoxicité chez les insectes et des troubles de la mue en formant des complexes avec le cholestérol. De nombreuses études ont montré que les saponines végétales sont efficaces contre les pucerons, les coléoptères, les charançons, les cicadelles, les vers et les mites (Singh et Kaur, 2018).

D'après Seri-Kouassi *et al.* (2004), la toxicité des bioproduits pour les insectes est causée par l'action de leurs composés majeurs, plusieurs plantes ont montré un potentiel insecticide contre les insectes (Bernays *et al.*, 1994 ; Aouinty, 2006).

Concernant l'action de l'extrait méthanolique des feuilles de *Mentha citrata* sur les adultes de *Tribolium castaneum* obtenu des résultats montrant, que l'effet de traitement par contact de l'extrait entraîne des taux de mortalité de 83,33% au bout de 7 jours après utilisations d'une dose de 200 mg /ml. La TL50, TL90 est de l'ordre 1j 11h et 27 jrs 2h respectifs et la meilleure DL50 était enregistré de 55,62 mg/ml pour une durée de 120h. On peut supposer que cette efficacité adulticide sera essentiellement due à l'action biologique des molécules bio actifs présent dans l'extrait méthanolique. Ces composés agissent définitivement sur la cuticule embryonnaire et de l'adulte et peuvent provoquer une asphyxie. Ce résultat a été confirmé par beaucoup d'auteurs (Ketoh *et al.*, 2000 ; Choi *et al.*, 2003 ; Bouchelta *et al.*, 2005 ; Thiaw et Sembène, 2010).

Chez les insectes, les organes olfactifs périphériques reconnaissent et traitent différents composants des mélanges d'odeurs. De plus, les réponses comportementales des insectes dépendent du degré de perméabilité, de l'état physiologique de l'insecte et de son âge (Al-Joary *et al.*, 2021; Verschut *et al.*, 2019). Bien que la variabilité de la réponse en fonction du temps d'exposition puisse s'expliquer par la stabilité du composé dans la poudre. Ces messages chimiques qui informent le distinaire de la présence d'un signal ne profitent qu'à l'organisme récepteur (Brown *et al.*, 1970). Ces composés organiques volatils jouent un rôle important dans les interactions interspécifiques. Ils sont principalement issus des voies de biosynthèse végétales (Dudareva *et al.*, 2004).

La présente étude montre également une corrélation positive entre la mortalité induite et la dose appliquée et cela suppose que l'extrait obtenu contienne diverses molécules bioactifs libérés au cours du processus de l'extraction. Cependant, leurs actions permettent une élimination maximale des populations des adultes. Il s'agit donc d'une activité biologique intéressante pour *T. castaneum*. De nombreux articles scientifiques publiés dans la littérature mettent en avant les effets répulsifs des produits phytothérapeutiques sur les insectes qui se logent.

Conclusion générale

Conclusion

Le coléoptère rouge de la farine, *Tribolium castaneum* est l'un des ravageurs des entrepôts les plus graves au monde. Cet insecte peut survivre dans des environnements très secs. De plus, l'espèce a montré une résistance à certaines classes d'insecticides. Ce qui nécessite de trouver des alternatives naturelles pour lutter contre ce ravageur et sur le développement de ces populations et réduire les effets nocifs des insecticides de synthèse dans l'environnement.

A l'issue de ce travail, consacré à l'étude de l'activité biologique des extraits méthanoliques d'une plante spontanée à vertu médicinale naturelle par l'application de quatre doses contre les adultes de *Tribolium castaneum*. Ainsi la détermination des DL50 et TL50 ; TL90. Concernant les essais de lutte par l'utilisation de l'extrait méthanolique de la plante *Mentha citrata*, les résultats ont montré un effet insecticide remarquable sur la sensibilité de l'insecte qui se traduit par une morte brutale, dont cet effet biocide dépend de la dose utilisée.

En effet, toutes les concentrations ont conduit à la mortalité des adultes de *T. castaneum*. Le rendement en extrait méthanolique de *Mentha citrata* obtenu à partir des feuilles est de 23,40%. La toxicité la plus élevée est notée pour la dose 200mg/ml causant une mortalité maximale de 83,33% après une période de 168 h et la plus faible dose de 25mg/ml causant la mortalité la plus faible de 63,33% au bout de 7 jours. Le meilleur résultat de dose létale pour tuer 50% de *T. castaneum* avec l'extrait méthanolique est 55,62. La détermination des temps létaux a affiché que ces temps varient en fonction de la dose utilisée. Elles diminuent avec l'augmentation des doses. Les meilleurs temps obtenus sont de 3jrs 12h et 1j 1h en TL50 enregistré pour les fortes doses de 100 et 200mg/ml respectivement et leurs TL90 est de 34jrs 10h et 27jrs 2 heures.

En perspective, il serait intéressant d'évaluer les effets de cet extrait sur d'autres stades biologiques de *Tribolium castaneum* ou d'autres insectes nuisibles des denrées stockées avec d'autres tests de toxicité (par inhalation, ingestion). Et ceci pour exploiter leurs propriétés insecticides et confirmer leurs toxicités et efficacités dans le domaine de la protection des entrepôts contre les ravageurs. Evaluer ainsi les effets des autres plantes médicinales sur les insectes nuisibles. Il est souhaitable d'approfondir les études par des analyses phytochimiques de la Menthe citronnée, afin de déterminer les molécules bioactives responsables de ces effets, et comprendre le mode d'action de cet extrait. Enfin tester l'efficacité de l'extrait de cette plante vis-à-vis du parasite en pleins champs est fortement recommandé.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

- Acheuk F, Belaid M, Lakhdari W, Abdellaoui K, Dehliz A, and Mokrane K (2017).**
Replency and toxicity of the crude ethanolic extract of *Limoniastrum guyonianum* against *Tribolium castaneum*. *Tunisian. Journal of Plant Protection*, 12 : 71-81.
- Adly F, Moussaid M, Elamrani A A, Berahal C, Moussaid H, Bourhim N & Loutfi M (2015).** Étude chimique de l'extrait aqueux d'*Allium subvillosum* (L.) (Alliaceae) et l'évaluation de sa toxicité chez les souris. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9 (1) : 542–551.
- Ait Taadaouit N, Hsaine M, Rochdi A, Nilahyane A & Bouharroud R (2012).** Effet des extraits végétaux méthanoliques de certaines plantes marocaines sur *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). *EPPO Bulletin*, 42 (2) : 275–280.
- Al-Joary Y I M A, Al-Obaidi R G, Al- Ejaidy S O (2021).** Study of the repellent activity of some medicinal herbs powder against adults of *Tribolium confusum* duv. (Tenebrionidae: coleoptera). *Plant Arch.* 21 (1) : 445–450.
- Alqethami A., Aldhebiani, A.Y., 2021.** Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: Phytochemical screening. In: *Saudi J. Biol. Sci*, 28 : 805–812.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.013>
- Ali A. Chua B L. Chow Y H (2019).** An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L.: Past, present and future. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 118, 338–351.
- Anemone C (2017, 09 08).** *Mentha citrata*(menthe citronée), consulté le 2022-03-01 sur Aquaportail. www.aquaportail.com/fiche-plante-3753-mentha-citrata.
- Angelini D R, Smith F W & Jockusch E L (2012).** Extent with modification: Leg patterning in the beetle *tribolium castaneum* and the evolution of serial homologs. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 2 (2) : 235–248.
- Angelini D.R, Jockusch E.L, (2008).** Relationships among pest flour beetles of the genus *Tribolium* (Tenebrionidae) inferred from multiple molecular markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution journal*, 46 (1) : 127-141.
- Anton R, Mulon L (2017).** Huiles essentielles et cosmétiques « bio ». *EMC - Cosmétologie et Dermatologie esthétique* : 12 (1) :1-9 [Article 50-120-D-05].
- Aouinty B, Oufara S, Mellouki F, Mahari S (2006).** Evaluation préliminaire de l'activité

- larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulate* (vahl) Mast) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 10 : 67-71.
- Asbahani A el, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi E H A, Casabianca H, Mousadik A el, Hartmann D, Jilale A, Renaud F N R & Elaissari A (2015).** Essential oils: From extraction to encapsulation. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 483, Issues 1–2 : 220–243.
- Auger J et Thiboute E (2002).** Substance soufrées des Allium et des Crucifères et leurs potentialités phytosanitaires. In Regnault-Roger, C, Philogène, B J.R, Vincent C. Biopesticides d'origine végétale. Tec &Doc, Paris, p77-96.
- Bastos C. Barros L. Duenas M. Calhella R C Queiroz M J R P. Santos-Buelga C. Ferreira I C F R (2015).** Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems. *Food Chem.* 173, 1045–1053.
- Begaa S, Messaoudi M (2018).** Thermal neutron activation analysis of some toxic and trace chemical element contents in *Mentha pulegium* L. *Radiochim Acta*, 106 (9) : 769–774.
- Begaa S, Messaoudi M (2019).** Toxicological aspect of some selected medicinal plant samples collected from Djelfa, Algeria Region. *Biol Trace Elem Res*, 187 (1) : 301–306.
- Bernays E.A, Chapman R.F (1994).** Host-plant selection by phytophagous insects. Contemporary topics in entomology; 2, New York: Chapman & Hall, 1994.
- Bernard C (2018).** Les alcaloïdes consulté octobre 02, 2022 sur Althea Provence : <https://www.altheaprovence.com>
- Belguidoum m., (2012).** Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. Mémoire Master Académique. Université Kasdi Merbah Ouargla. 55p
- Ben Amor B, (2008)** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC). Génie des procédés. Université de La Rochelle, p10-11
- Bolev, v. (2014).** Bug guide. Species *Tribolium castaneum*. Iowa State University, Department of Entomology.
- Bonneton F (2010).** Quand *Tribolium* complémente la génétique de la drosophile. In

- Médecine/Sciences* (Vol. 26, Issue 3, pp. 297–303).
- Bogolitsyn K, Krasikova A, Guskova M, Ivakhnov A, Gravitis J (2019).** Selective extraction of terpenoid compounds of *Juniperus communis* L. wood in the medium of a binary solvent (supercritical CO₂ with modifier). *Phytochem. Anal.* 30, 609-616.
- Boukhatem MN, Ferhat A et Kameli A (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature extraction methods of essential oils from medicinal plants: a comprehensive review. In *boukhatem et al. Revue Agrobiologia* (Vol. 9, Issue 2).
- Boukhatem M N, Hamaidi M S, Saidi F, Hakim Y (2010).** «Extraction, composition et propriété physico-chimiques de l'huile essentielle de Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L) cultivé dans la plaine Mitidja » Revue « Nature et Technologie» n°03 P 37-45
- Bougandoura N et Bendimerad N (2012).** Effet antifongique des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. (*Neptera*) briq. *Revue des Bio Ressources*, 2 :1-7.
- Brahmi F, Khodir M, Mohamed C, Pierre D (2017).** *Chemical composition and biological activities of Mentha species*. Aromatic and medicinal plants-back to nature. InTech, London, pp 47–80.
- Briemann, H R., Setzer, W N., Kaufman, P B., Kirakosyan, A & Cseke, L J. (2006).** Phytochemicals: The Chemical Components of Plants, In: *Natural Products from Plants* (2nd ed), L.J. Cseke, A. Kirakosyan, P.B. Kaufman, S.L. Warber, J.A. Dule & H.R. Briemann, pp.1-50, CRC Press, ISBN 978-0-8493-2976-0, Boca Raton.
- Bruneton J. (1993).** **Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales.** Technique et documentation Lavoisier, Paris, 915 p.
- Bruneton J (2005).** *Plantes toxiques (végétaux dangereux pour l'homme et les animaux)*. Paris : Techniques et documents Lavoisier.
- Butnariu M, Sarac I (2018).** Essential oils from plants. *J Biotechnol Biomed Sci*, 1 (4) : 35–43.
- Cabi (2007).** *Tribolium castaneum* (red flour beetle) datasheet. Crop Protection Compendium, 2007 Edition. CAB International Publishing. Wallingford, UK.
- Cantino P D, Harley R M and Wagstaff S J (1992).** Genera of Labiatae: Status and

- Classification. In R.M. Harley and T. Reynolds (Editors). *Advances in Labiate Science*, pp. 511-522. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Carović-Stanko K, Petek M, Grdiša M, Pintar J, Bedeković D, Čustić M H, Satovic Z (2016)**: Medicinal plants of the family Lamiaceae as functional foods – a review. *Czech. J. Food Sci.*, 34: 377-390.
- Cheikh Abdou Khadre Mbacké Dia(2019)**. Caractérisation morphogénétique des populations Ouest-africaines de *Tribolium castaneum* Herbst, ravageur des céréales stockées : différenciation en races hôtes et écotypes. Génétique des populations [q-bio.PE]. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal. Français.
- Cherfi N et Gassi N (2020)**. *Effets insecticides des extraits de Globularia alypumet de Retama sphaerocarpa sur deux ravageurs des denrées stockées Tribolium castaneum et Ephestia kuehniella*. Mémoire de Master. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira
- Christine B (2001)**. *Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux : guide pratique*. 2^{ème} Edition, 124-154.
- Comité scientifique pour la sécurité du consommateur (CSSC) (2012)**. Opinion on fragrance allergen in cosmetic products.
- Delobel A et Tran M (1993)**. *Coléoptères de denrées alimentaires entreposées*. Paris: Ed. Orstom/CTA .424p.
- Delobel A et Tran M (1993)**. *Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes*, IRD Editions, p : 275-280 et 345-346.
- Dia C A K M, Sarr A G R J, Kafom A, Diome T, Ngom D, Thiaw C, Ndiaye S & Sembene M (2018)**. Identification morphométrique des populations de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodées à trois céréales à Widou Thiengoli. *Journal of Applied Biosciences*, 119 (1) : 11929.
- Djermoun A (2009)**. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*, 1 : 45-53.
- Domínguez J et Marrero L (2010)**. Catálogo de l'entomofauna asociada a almacenes d'alimentos en la provincia de matanzas. *Fitosanidad* 14: 75-82.
- Doumandji A, Doumandji-Mitiche B et Doumandji S (2003)**. Cours de technologie des céréales : technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. *Office des publications universitaires* : 1-22 pp.
- Dugravot S (2000)**. *Analyse de la réponse d'insectes spécialistes et non-spécialistes à un composé soufré*. Diplôme d'études approfondies, Université de Tours, 25 p.

- El-Zun H, El-tawelah N, Salem A & Hamza A (2016).** Comparative Effects of Certain Plant Oils, Plant Powders and Insect Growth Regulators Against *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) and *Tribolium castanum* (Herbst) Adults Using Two Methods of Application. *Journal of Plant Protection and Pathology*, 7 (11) : 681–688.
- Fatma zohra T & Zahr-Eddine D (2020).** Effet biocide des extraits méthanolique et aqueux du bigaradier *Citrus aurantium* L. (1753) sur le charançon du blé *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758) (Vol. 10, Issue 2).
- François J., Gaudry M., Part R. (2012).** *Biologie végétale: Croissance et développement*. Dunod (ed.). Paris. P217-218.
- Foua-Bi K (1989).** Céréales des régions chaudes conservation et transformation, Parmentier M, Fouad-bi K (eds).AUPELF-UREF. Ads John Libbey Eurotext : Paris ; 97-104.
- Gamboa-Gomez C I. SimentalMendía L E. Gonzalez-Laredo R F. Alcantar-Orozco E J. Monserrat-Juarez V H. Ramírez-Espana J C. Gallegos-Infante J A. MorenoJimenez M R. Rocha-Guzmán N E (2017).** In vitro and in vivo assessment of antihyperglycemic and antioxidant effects of Oak leaves (*Quercus convallata* and *Quercus arizonica*) infusions and fermented beverages. *Food Res. Int.* 102 (September), 690–699
- Gomes PB, Mata VG, Rodrigues AE (2014).** « Characterization of Portuguese grown geranium oil (*Pelargonium* sp.) ». *J. Essent. Oil Res.* 16 490–495.
- Groubert A (1984).** Techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.
- Guignard, J.-L. (1996).** Biochimie végétale. Masson, Paris, 255 p.
- Gueye A, Diome T, Thiaw Ch, Sembene M, Appl J (1997).** Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé à l'mil (*Pennisetum glaucum* Leek) et le maïs (*Zea mays* L.) *Journal of Applied Biosciences*.
- Guèye AC, Diome T, Thiaw C, Ndong A, Guèye A, Sembène M (2012).** Capacity of biodemographic development of *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae) in stored cereals in Senegal.
- Gueye et al. (2015).** Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé dans le mil (*Pennisetum glaucum* Leek) et le maïs (*Zea mays* L.) *J. Appl. Biosci.*

- Guèye M.T, Seck D, Wathelet J.P, Lognay G (2011)** : Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15 (1) : 183-194.
- Haines, C. P. (1991)**. Insects and arachnids of tropical stored products: their biology and identification (a training manual).
- Hunt T, Bergsten J, Levkanicova Z, Papadopoulou, A, John O.St , Wild R, Hammond P.M, Ahrens D, Balke M, Caterino M.S, Gómez-Zurita J, Ribera I, Barraclough T.G, Bocakova M, Bocak L, Vogler A.P, (2007)** .A Comprehensive Phylogeny of Beetles Reveals the Evolutionary Origins of a Superradiation. *Science* 318 (5858) : 1913-1916.
- Husnu Can Baser K & Buchbauer G.** (n.d.). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. P 83
- Isman M B.** (n.d.). *Plant essential oils for pest and disease management*.
- Jesus Cardenas (2016)**. « les huiles essentielles antiparasitaire-insecticide»
<https://www.doctissimo.fr> consulté 03/03/2022.
- Jimenez-Moreno N. Moler J.A. Urmeneta H. Suberviola-Ripa J. Cibriain-Sabalza F. Gandía L M. Ancín-Azpilicueta C. (2018)**. Oak wood extracts applied to the grapevine. An alternative to obtain quality Garnacha wines. *Food Res. Int.* 105 (November 2017), 628–636.
- Jirovetz L, Buchbauer G and MB Ngassoum (1997)**. Investigation on the essential oils of dried fruits of *Xylopi aethiopica* (West african peper tree) and *Xylopi parviflora* from Cameroon. *Nutrition / Ernährung* ; 22 (VII-VIII) : 324- 325.
237- 242.
- Kanko C, Sawaliho B E H, Kone S, Koukoua G & N'Guessan Y T (2004)**. Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes Rendus Chimie*, 7 (10–11) : 1039–1042.
- Kaufmann M and Wink M (1994)**. Molecular systematics of the Nepetoideae (Family Labiatae): phylogenetic implications from rbcL gene sequences, *Z. Naturforsch.*, 49 c, 635–645.
- Kemassi A, Herouini A, Hadj S, Cherif R & Ould Elhadj M (2019)**. Effet insecticide des extraits aqueux d'*Euphorbia Guyoniana* (Euphorbiaceae) récoltée dans Oued Sebseb

- (Sahara algérien) sur le *Tribolium Castaneum*. *Lebanese Science Journal*, 20 (1) : 55–70.
- Kemassi (2014)**. *Toxicité compare des extraits d'Euphorbia guyoniana (Euphorbiaceae), Cleome arabica L. (Capparidaceae) et de Capparis spinosa L. (Capparidaceae) récoltés de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional) sur les larves du cinquième stade et les adultes de Schistocerca gregaria (Forsk., 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae)*. Thèse de doctorat en Ecologie Saharienne et Environnement, université de Kasdi Merbah-Ouargla, 264 p.
- Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho IA (2005)**. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hyménoptera : Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, 41: 363-371.
- Khellaf N H (2017)**. *Effet des propriétés physicochimiques et du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de Zingiber ; mémoire*.
- Kokkini S (1991)**. Chemical races within the genus *Mentha* L. In : Linskens, H.F., Jackson, J.F. (eds) *Essencial oils and waxes. Modern methods of plant analysis*, vol 12. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kouninki H, Ngamo L S T, Hance T et Ngassoum M B , 2007**. Potential use of essential oils from local Cameroonian plants for the control of red flour weevil *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development*, 7 (5) : ISSN 1684-5374.
- Kouninki H, Haubruge E, Noudjou FE, Lognay G, Malaisse F, Ngassoum MB, Goudoum A, Mapongmetsem PM, Ngamo LS and T Hance (2005)**. Potential use of essential oils from Cameroon applied as fumigant or contact insecticides against *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 2005; 70 (4) : 787-792.
- Kumar R (1991)**. *La Lutte Contre les Insectes Ravageurs*. Karthala et CTA : Paris ; 10- 311.
- Lahlou M (2004)**. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : 435-448.
- Lakhdari W & Khemais A (2017)**. *Repellency and Toxicity of the Crude Ethanolic Extract of Limoniastrum guyonianum against Tribolium castaneum*.
- Lawrence B M (2007)**. *Mint: the genus Mentha*. CRC Press, Boca Raton

- Leybros J, Fremeaux P(1990)** Extraction solide-liquide - Aspects théoriques. Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), p310
- Joly A, Giner M (1993).** Analyse de la dose letale 50, DL50. Version 4.6. Montpellier : CIRAD-CA, 41 p.
- Luque-Garcia, J. L. and M. D. Luque de Castro (2003).** "Ultrasound: A powerful tool for leaching." Trends in Analytical Chemistry 22: 41-47.
- Luque-Garcia, J. L. and M. D. Luque de Castro (2004).** "Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds." Journal of Chromatography A 1034
- Maisonneuve et Larose (1985).** *Le stockage des produits vivriers et semenciers*, Tome 2: Lutte contre les ravageurs, hygiène de stockage.
- Mason L J (2003).** *Grain Insect Fact Sheet E-224-W: Red and Confused Flour Beetles, Tribolium castaneum (Bhst.) and Tribolium confusum Duval.* Purdue University, Department of Entomology.
- Mason L J (2018).** Red and confused flour beetle *Tribolium castaneum*(Bhst) and *Tribolium confusum* Duval consulté septembre 30, 2022 sur extension entomology: <https://extension.purdue.edu.com>
- Mahmoud, S.S. & Croteau, R.B. (2002).** Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. Trends in Plant Science, Vol. 7, pp. 366-373.
- Malca-Garcia G R. Zagal D. Graham J. Nikolic D. Friesen J B. Lankin D C. Chen S N. Pauli G F (2019).** Dynamics of the isoflavone metabolome of traditional preparations of *Trifolium pratense* L. J. Ethnopharmacol. 238 (March), 111865
- Malca-Garcia G R. Zagal D. Graham J. Nikolic D. Friesen J B. Lankin D C. Chen S N. Pauli G F. (2019).** Dynamics of the isoflavone metabolome of traditional preparations of *Trifolium pratense* L. J. Ethnopharmacol. 238 (March), 111865
- Merritt D E L, Murray J, Lirwitencet B M & Wor K (1986).** *Chemical composition and genetic basis for the isopinocampone chemotype of mentha citrata hybrids* (vol. 25, issue 8).
- Meullemiestre Alice. Petitcolas E. Maache-Rezzoug Z. Ginies C. Chemat F, Rezzoug S A. (2014).** Isolation of volatils from maritime pine sawdust waste by different processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, and hydrodistillation. Wood Mater. Sci. Eng. 9 (2), 76–83.

- Myers, P., R. Espinosa, C. S. Parr, T. Jones, G. S. Hammond, and T. A. Dewey. (2016).** The Animal Diversity Web (online). Accessed at <http://animaldiversity.org>. Accessed 24/02/2016
- Mimica-Dukic N, Bozin B (2008).** *Mentha* L. species (Lamiaceae) as promising sources of bioactive secondary metabolites. *Curr Pharm Des* 14 (29) : 3141–3150.
- Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Mihajlovic B, Matavulj M (2003).** Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Med* 69 (5) : 413–419.
- Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N (2004).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem* 52 (9) : 2485–2489.
- Ncibi S, Barbouche N, Haouel-Hamdi S, Ammar M (2019).** Journal of new sciences, *Agriculture and Biotechnology*, 66 (5) : 4182-4194.
- Parekh J, Jadeja D, Chanda S (2006).** Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turk. J. Biol.* 29 : 203-210.
- Patra J K. Das G. Lee S. Kang S S. Shin H S (2018).** Selected commercial plants: A review of extraction and isolation of bioactive compounds and their pharmacological market value. *Trends Food Sci. Technol.* 82 (April), 89–109.
- Pibiri M C (2006).** *Assainissement microbiologique l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles.* Thèse.
- Ptt J I, Hocking A D (1997).** Fungi and food spoilage, second ed. Blakie Academic and Professional, London, UK, 503 p.
- Radjendrah S, Parven H (2005).** Insect infestation in stored animal products. *J stored Prod. Res*, 41 (1) : 1-30.
- Rakotoniaina, E N. Donno D. Randriamampionona D. Harinarivo H L. Andriamaniraka H. Solo N R. Soifoini T. Torti V. Rabemanantsoa C. Andrianjara C. Ratsimiala I R. Giacoma C. Beccaro G L. (2018).** Insights into an endemic medicinal plant species of Madagascar and Comoros: The case of *Famelona* (*Chrysophyllum boivinianum* (Pierre) Baehni, Sapotaceae family. *South Afr. J. Bot.* 117, 110–118.
- Rahman M M, Islam W et Ahmed K N (2009).** Functional response of the predator *Xylocoris flavipes* to three stored product insect pests. *Int. J. Agric. Biol.*, 11 (3) : 316-320.

- Roorda FA (1982).** Laboratory observations on the development of *Tribolium castaneum* HERBST. (Col., *Tenebrionidae*) on millet at different temperature and relative humidities. *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 93: 446-452.
- Roze L V, Chanda A & Linz J E (2011).** Compartmentalization and molecular traffic in secondary metabolism: a new understanding of established cellular processes. *Fungal Genetics and Biology*, Vol. 48, p. 35–48.
- Sabrina Krief.(2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Sciences du Vivant [q-bio]*. Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS Français. fftel-00006170f
- Samuel Kofi Tulashie & Siisu Salifu (2017):** Potential production of biodiesel from green microalgae, *Biofuels*,
- Santos K A. Gonçalves J E. Cardozo-Filho L. daSilva E A (2019).** Pressurized liquid and ultrasound-assisted extraction of α -bisabolol from candeia (*Eremanthus erythropappus*) wood. *Ind. Crops Prod.* 130 (January), 428–435.
- Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram K M, Latha L Y(2011).** Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr. J. Trad. Compl. Alter. Med.* 8 (1) : 1-10.
- Seada M A, & Hamza A M (2018).** Differential morphology of the sensory sensilla of antennae, palpi, foretarsi and ovipositor of adult *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : *Tenebrionidae*). *Annals of Agricultural Sciences*, 63 (1) : 1–8.
- Selvamuthukumar M Shi J. (2017).** Recent advances in extraction of antioxidants from plant by-products processing industries. *Food Qual. Saf.* 1 (1), 61–81
- Shazali M.E.H et Smith R.H (1986).** Life history studies of externally feeding pests of stored sorghum: *Corcyra cephalonica* (Staint.) and *Tribolium castaneum* (HBST). *Journal of Stored Products Research*, 22 (2) : 55-61.
- Singh B and Kaur A (2018).** Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins: A review. *LWT - Food Sci. Technol.* 87 : 93–101.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.077>.
- Sokoloff A (1974).** *The Biology of Tribolium: With Special Emphasis on Genetic Aspects*. Vol. 2. Clarendon Press, Oxford.
- Sreeramoju P & Msk P (2016).** (n.d.). *Volume-6, Issue-2, Coden: ijpaix-cas-usa*,

Copyrights@2016 complete study of life cycle of Tribolium castaneum and its weight variations in the developing stages.

- Serturmer F (1805)** Darstellung der reinen Mohnsäure (Opium säure) nebst einer chemischen Untersuchung des Opiums neu entdeckten stoff und die dahin gehöri gen Bemerkungen. Journal der Pharmacie f Aerzte, Apotheken und Chemischen 14:47–93
- Swamy M K. Akhtar M S (2019).** Natural bio-active compounds: Chemistry, pharmacology and health care practices. Nat. Bio-Act. Compd.: Chem., Pharmacol. Health Care Pract. Vol. 2
- Tchoumboungang F, Michel Jazet Dongmo P, Lambert Sameza M, Gaby Nkouaya Mbanjo E, Bertrand Tiako Fotso G, Henri Amvam Zollo P, & Menut C (2009).** B A S E Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. In *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* (Vol. 13, Issue 1).
- Tisserand R, Balacs T(2014).** Essential oil safety. Édimbourg : Elsevier Churchill Livingstone.
- Tiwari B K. (2015).** Ultrasound: A clean, green extraction technology. TrAC - Trends Anal. Chem. 71, 100–109
- Tongnuanchan P, & Benjakul S (n.d.).** *Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation.*
- Tyler, V.E., Brady, L.R., Robbers, J.E. (1881).** **Pharmacognosy. Lea & Febiger, Philadelphia, 520 p.**
- Uritu C M, Mihai C T, Stanciu G D, Dodi G, Alexa-Stratulat T, Luca A, Leon-Constantin M M, Stefanescu R, Bild V, Melnic S, & Tamba B I (2018).** Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. *Pain Research and Management, 2018.*
- Wang L. Weller, C L (2006).** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends Food Sci. Technol. 17 (6), 300–312.
- Wang, J ; Mazza, G. (2002).** Effect of Anthcyanins and other phenolic compounds on the production of Tumor Necrosis Factors α in LPS/IFN- γ -Activated RAW.264.7.Macrophages. *J.Agric.Food.Chem.*50.4183-4189, 2002

Wen P. Hu T G., Linhardt R J. Liao S T. Wu H. Zou, Y X. (2019). Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology. *Trends Food Sci. Technol.* 83 (May 2018), 138–158.

Wen P. Hu T G. Linhardt R J. Liao, S T. Wu H. Zou Y X (2019). Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology. *Trends Food Sci. Technol.* 83 (May 2018), 138–158.

Zwingelstein M. Draye M. Besombes J L. Piot C. Chatel G. (2020). Viticultural wood waste as a source of polyphenols of interest: Opportunities and perspectives through conventional and emerging extraction methods. *Waste Manag.* 102, 782–794.

Annexe

Annexe :

	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
D1.R1	3	4	4	4	5	5	5
D1. R2	2	2	3	4	5	5	7
D1.R3	2	2	2	3	3	6	7
D2. R1	2	2	3	3	3	5	5
D2. R2	3	3	3	3	4	5	7
D2.R3	3	4	5	6	7	7	8
D3. R1	3	4	4	5	6	7	8
D3. R2	3	4	4	3	4	5	6
D3. R3	3	3	3	6	7	8	8
D4. R1	5	5	5	5	6	7	8
D4. R2	5	6	6	7	7	8	8
D4.R3	5	5	6	6	7	8	9
T.R1	0	0	0	0	0	0	0
T. R2	0	0	0	0	0	0	0
T.R3	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 05 : les mortalités observées au niveau de la population de *T.castaneum*.

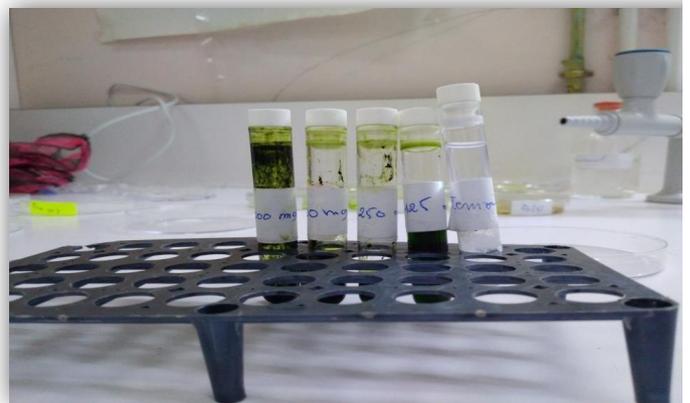


Figure 33 : Récupération de l'extrait méthanolique de *M.citrata* et préparation des doses des bio-essais