

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE BLIDA I
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTHEQUENOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE DE
L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER ACADEMIQUE EN SCIENCES
DE LA NATURE ET DE LA VIE
Spécialité : Phytopharmacie Appliquée

Thème

**ETUDE COMPRATIVE ENTRE LES EFFETS BIOCIDES
DES POLYPHENOLS ET LES EXTRAITS AQUEUX DU
PIN D'ALEP ET DU LANTANIER SUR LE *Tribolium*
castaneum Herbst.**

Présent par :

M^{elle} SIDI MOUSSA Hind

M^{elle} TAOUTAOU kawther

Devant le jury :

M ^{me} MOUSSAOUI K.	M.A.B à U.S.D. Blida (1)	Président
M ^{me} ALLAL L.	Professeur U.S.D.Blida(1)	Promotrice
M ^{me} DJENNAS K.	M.A.A à U.S.D. Blida(1)	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014/2015

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, nous à remercier en premier lieu le Bon Dieu ALLAH de nous avoir guidé sur le droit chemin de la volonté et de Courage qu'il nous a attribué.

Nos remerciements s'adressent à Mme ALLAL pour nous avoir encadrés durant la réalisation de notre thèse, pour ces précieux conseils, son dévouement, sa patience, sa générosité.

Nous remercions également :
Mme MOUSSAOUI qui a bien voulu accepter de présider notre jury.
Mme DJENNAS pour avoir bien voulu faire partie de jury et examiner ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous les enseignants De notre institut surtout de la spécialité Phytopharmacie Appliquée

Un très grand merci à tous qui a participé de près ou de loin dans la Réalisation de ce modeste travail.

Enfin, ce travail n'aurait pas été mené au terme sans les concessions Et les encouragements de nos chères parents que Dieu nous les protège et Notre promotrice auxquels je dis tout simplement merci.

DEDICACES

Je dédie ce travail à mes très chers parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude.

À mon frère Ayoub et ma sœur Djihane

À ma copine Yasmina

À mon binôme Kawther

À toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail

Hind

DEDICACE

JE dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents la lumière de ma vie, pour leur tendresse, leurs encouragements et leurs sacrifices, pour l'espoir qu'ils ont semé en moi, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance

À mes très chers sœurs : Sarah, OumZayd, Sabah, Hiba, Soumia, Wafaa

À mes chers frères : Abdrahim, Abdraouf

À ma chère tante Zahia

À mes oncles : Abdelkader, Kamel, Hassen, Mohamed

À toutes les familles : Nina, Hanifa, Meriem, ma grand-mère

À Mon binôme : Hind.

À la mémoire de mon grand-père paternel, À la mémoire de ma grand-mère « Mima » maternelle, et ma chère tante Dalila

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

À tous les enseignants de l'agronomie surtout de la spécialité
Phytopharmacie Appliquée.

Mes remerciements vont aussi à Mlle DJEMAI. Y, technicienne du laboratoire de zoologie et Mr Abderrahmane, technicienne du laboratoire de phytopharmacie pour leurs aides.

À tous qui m'a connu de près ou de loin.

Et enfin à moi-même.

Kāw Thār ☺

Résumé

Etude comparative entre les effets biocides des polyphénols et des extraits aqueux du pin d'Alep et du Lantanier sur le *tribolium castaneum* Herbst.

Cette étude a pour but d'évaluer le potentiel insecticide des solutions aqueuses et des polyphénols extraits de deux plantes aromatiques choisies le Pin d'Alep (*Pinus halpensis*) et le Lantanier (*Lantana camara*) sur un ravageur modèle des denrées stockées *Tribolium castaneum*. Les mortalités et les toxicités journalières sont été évaluées sur une période de 3 jours puis après une semaine après application des solutions de traitements, par inhalation et par contact des polyphénols et des extraits aqueux respectivement.

Globalement, les mortalités et les toxicités enregistrées avec les extraits polyphénoliques sont plus élevées que celles obtenus avec les extraits aqueux, notamment à 72h et après 7 jours à la dose pure et aux demi-doses testées. Les polyphénols extraits du pin d'Alep se sont avérées plus intéressants. Néanmoins, les doses utilisées semblent peu efficaces d'après notre expérimentation. L'utilisation des polyphénols des deux plantes testée avec le quart de dose pourrait engendrer un effet biocide progressif.

Mots clés : *Pinus halpensis*, *Lantana camara*, extrait aqueux, extrait polyphénolique, *Tribolium castaneum*, contact, inhalation, Toxicité.

Abstract

Comparative study between the biocidal effects of polyphenols and aqueous extracts of *pinus halepensis* Mill. and *Lantana camara* linn. on *tribolium castanum* Herbst.

This study aims to assess the insecticidal potential of aqueous and polyphenols extracts of two chosen aromatic plants: the Aleppo pine (*Pinus halpensis*) and (*Lantana camara*) on a stored products pest model *Tribolium castaneum*. Mortalities and daily toxicities are evaluated over a period of 3 days and after one week after application of treatment solutions by inhalation and contact of polyphenols and aqueous extracts respectively.

Globally, mortalities and toxicities recorded with the polyphenol extracts were higher than those obtained with the aqueous extracts, in particular at 72 hours and after 7 days at the pure dose and halves tested doses. The polyphenols extracted from the Aleppo pine proved more interesting. However, the doses used appear inefficient according to our experimentation. The use of polyphenols with both tested plants with a quarter dose could cause a gradual biocidal effect.

Key words: *Pinus halpensis*, *Lantana camara*, aqueous extract, polyphenolics, *Tribolium castaneum*, contact, inhalation, toxicity.

الملخص

دراسة مقارنة بين تأثير المبيدات الحيوية للبوليفينولات والمستخلصات المائية *Pin d'alep* و *Lantanier* على *Tribolium castaneum*

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم المبيدات الحشرية للمستخلصات المائية والبوليفينولية Polyphénols المستخرجة من النبتتين

العطريتين الصنوبر الحلبي ونبتة لانتانا *Lantana camara* على الحشرة *Tribolium Castaneum* المضرة بالأطعمة المخزنة.

يتم تقييم الوفيات والسميات اليومية على مدى 3 أيام، وبعد أسبوع واحد بعد تطبيق العلاج عن

طريق الإستنشاق والملاسة للبوليفينوليات والمستخلصات المائية.

عاما الوفيات والسميات التي سجلت مع المستخلصات البوليفينية أكثر من المستخلصات المائية لاسيما

في 72 ساعة وبعد 7 أيام في الجرعة الكاملة ونصف الجرعة. البوليفينوليات المستخلصة من الصنوبر

الحلبي اثبتت انها أكثر أهمية. الجرعات اظهرت اقل فعالية في تجربتنا. استعمال البوليفينوليات من

النبتتين مع ربع الجرعة سبب توليد مييد بيولوجي تدريجي.

كلمات البحث: الصنوبر الحلبي *Pinus halepensis* ، لانتانا كامارا (*Lantana camara*) ، مستخلص مائي،

مستخلص البوليفينول (polyphénol) ، الأطعمة المخزنة، استنشاق، الوفيات، السميات.

Table des matières

RÉSUMÉ	
ABSTRACT	
ملخص	
REMERCIEMENTS	
DÉDICACES	
TABLE DES MATIÈRES	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION GENERALE	15
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE	
Introduction	18
1.1. Parmi les premiers pesticides naturels	18
1.2. Première génération de molécules végétales insecticides	19
1.2.1. Nicotine	20
1.2.2. Autres alcaloïdes	21
1.2.3. Roténone et rétinoides	24
1.2.4. Pyrèthres	26
1.2.5. Huiles végétales	28
1.3. Deuxième génération de molécules insecticides d'origine végétale	28
1.3.1. Les pyrèthrinoides de synthèse	29
1.3.2. Azadirachtine	29
1.4. Les composés phénoliques	31
1.4.1. Présentation des polyphénols	31
1.4.2. Classification des polyphénols	32
1.4.3. Biosynthèse des polyphénols	33
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
Partie1 : Présentation de l'espèce étudiée <i>Tribolium castaneum</i> Herbst	35
1.1. Position systématique	36
1.2. Origine et répartition géographique	37

1.3.	Description du cycle biologique	37
Partie 2 : Matériel Végétal : Lantana camara Linn. et Pinus halepensis Mill		39
2.1.	Le genre Lantana sp :	39
2.1.1.	L'espèce Lantana camara Linn	39
2.1.1.1	Généralités	39
2.1.1.2	Classification	40
2.1.1.3	Description botanique	40
2.1.1.4	Composition chimique	41
2.2	Le Pin d'Alep	42
2.2.1.	Classification et description	43
2.2.2.	Répartition du pin d'Alep en Algérie	44
2.2.3.	Composition chimique des aiguilles du pin d'Alep	44
3.	Méthodologie de l'application des phytoessais	45
3.1.	Matériel végétal	45
3.2.	Matériel biologique	45
3.3.	Autres matériels utilisés	45
3.4.	Préparation des extraits aqueux	46
3.4.1.	Extrait aqueux par agitation	46
3.4.2.	Extraits phénoliques	47
3.4.2.1.	La macération	47
3.4.2.2.	La pigmentation et purification	48
3.4.3	Dosage des polyphénols	49
3.4.3.1.	Réactifs utilisés	49
3.4.4.	Préparation des doses testées	50
3.4.5.	Traitements	50
3.5.	Exploitation des données	50
3.5.1.	Evaluation des mortalités et des toxicités des solutions aqueuses et phénoliques	50
3.5.2.	Calculs des rendements en polyphénols des phytoextraits de <i>L. camara</i> et de <i>P. halepensis</i> .	51

CHAPITRE III RÉSULTATS ET DISCUSSION

1.	Rendements en polyphénols	53
2.	Dosage des phénols totaux	53
3.	Mortalités moyennes comparées des différents traitements biologiques	54
3.1.	Mortalités moyennes globales sous l'effet des extraits aqueux des deux plantes testées	54
3.2.	Mortalités moyennes globales sous l'effet des extraits phénoliques des deux plantes testées	56
3.3.	Analyse des mortalités comparées de <i>T. castaneum</i> sous l'effet des extraits aqueux et phénoliques des deux plantes testées.	57
4.	Toxicités moyennes comparées des différents traitements biologiques	59
4.1.	Toxicités moyennes globales sous l'effet des extraits aqueux des deux plantes testées	59
4.2.	Toxicités moyennes globales sous l'effet des extraits phénoliques des deux plantes testées	60
4.3.	Analyse des toxicités comparées des extraits aqueux et phénoliques des deux plantes testées sur <i>T. castaneum</i> .	60
5.	Analyse globale du potentiel insecticide des deux phytoextraits sur <i>T. castaneum</i>	62
5.1	Analyse globale des effets sur les mortalités	62
5.2.	Analyse globale des effets des facteurs sur les toxicités	64
	Discussion générale	65
	Conclusion et perspectives	70
	Annexe	73
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE	80

Listes des figures

Figure 1 :	Champs de plants de tabac	21
Figure 2 :	<i>Veratrum album</i>	22
Figure 3 :	<i>Sabadilla, Sébadille ou Indian caustic barley</i>	23
Figure 4 :	<i>Rynia</i>	24
Figure 5 :	<i>Cassia amara</i>	24
Figure 6 :	<i>Lonchocarpus nicou</i>	25
Figure 7 :	<i>Tephrosia virginiana</i>	25
Figure 8 :	Fleurs moulués de <i>Chrysanthemum</i>	27
Figure 9 :	Arbre de Neem ou Margousier en Inde <i>Azadirachta indica</i> A. Juss	30
Figure 10 :	Quelques insecticides d'origine végétale	30
Figure 11 :	Principaux composant phénolique.	32
Figure 12 :	Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols	33
Figure 13 :	<i>Tribolium castaneum</i> Herbst (adulte)	35
Figure 14 :	Adulte de <i>Tribolium castaneum</i> . Vues dorsale, latérale et ventrale	35
Figure 15 :	Nymphes de <i>Tribolium castaneum</i> . Vues dorsale et ventrale et extrémités abdominales de la puppe de <i>Tribolium castaneum</i>	36
Figure 16 :	Stades larvaires de <i>Tribolium castaneum</i>	37
Figure 17 :	La durée de développement des stades successifs du <i>Tribolium Castaneum</i>	38
Figure 18 :	Caractéristiques botaniques de <i>Lantana camara</i>	40
Figure 19 :	Feuilles, fleurs et fruits de <i>Lantana camara</i> L	41
Figure 20 :	Pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i>)	42
Figure 21 :	Aiguilles (1) et pièces reproductrices du pin d'Alep (2 et 3)	43
Figure 22 :	Aire de répartition du pin d'Alep en Algérie	44
Figure 23 :	Les différentes étapes pour la préparation de l'extrait Aqueux des parties foliaires de <i>L. camara</i> et <i>P. halepensis</i>	46
Figure 24 :	Les différentes étapes pour la préparation de la macération des deux plantes	47
Figure 25 :	Séparation du méthanol des phytoextraits	48
Figure 26 :	La phase organique et la phase aqueuse des phytoextraits	49
Figure 27 :	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	54
Figure 28 :	Variations comparées des mortalités moyennes globales de <i>T. castaneum</i> sous l'effet des extraits aqueux de <i>Lantana Camara</i> et de <i>Pinus halepensis</i> .	55
Figure 29 :	Evolution temporelle des mortalités de <i>T. castaneum</i> traité par les solutions aqueuses de chaque plante.	55
Figure 30 :	Variations comparées des mortalités moyennes globales de <i>T. castaneum</i> sous l'effet des extraits phénoliques de <i>Lantana Camara</i> et de <i>Pinus halepensis</i> .	56
Figure 31 :	Evolution temporelle des mortalités de <i>T. castaneum</i> traité par les solutions phénoliques de chaque plante.	57
Figure 32 :	Résultats de l'analyse de la variance (Modèle linéaire global) des effets comparés des doses d'application des extraits respectifs des deux plantes sur les mortalités de <i>T. castaneum</i> en fonction du temps d'exposition aux traitements biologiques	58
Figure 33 :	Variation temporelle des toxicités des solutions aqueuses des deux plantes testées sur <i>T. castaneum</i> .	59

Figure 34 :	Variation temporelle des toxicités des solutions phénoliques extraites des deux plantes testées sur <i>T. castaneum</i> .	60
Figure 35 :	Résultats de l'analyse de la variance (Modèle linéaire global) des toxicités comparées des deux phytoextraits sous l'effet des doses d'application et du type de traitement en fonction du temps d'exposition.	61
Figure 36 :	Analyse en composantes principales (ACP) des mortalités de <i>Tribolium castaneum</i> selon les traitements biologiques considérés.	63
Figure 37 :	Analyse en composantes principales (ACP) de pourcentage de population résiduelle de <i>Tribolium castaneum</i> dans les deux traitements considérés.	64

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau1 :	Composition phytochimique des feuilles et des fleurs de <i>L. camara</i>	41
Tableau2 :	Rendements en polyphénols de <i>Lantana camara</i> et <i>Pinus halepensi</i>	53
Tableau3 :	Mortalités maximales temporelles de <i>T. castaneum</i> traités par l'extrait aqueux de <i>Lantana Camara</i> et <i>Pinus halepensis</i> en fonction des doses testées	56
Tableau4 :	Mortalités maximales temporelles de <i>T. castaneum</i> traités par l'extrait polyphénolique de <i>Lantana Camara</i> et <i>Pinus halepensis</i> en fonction des doses testées.	57
Tableau5 :	Résultats de la significativité des différences observées des facteurs sur les mortalités de <i>T. castaneum</i> (probabilités associées et F ratios)	58
Tableau6 :	Résultats de la significativité des différences observées des facteurs sur les toxicités des deux types d'extraits végétaux sur <i>T. castaneum</i> (probabilités associées et F ratios)	61

Liste des abréviations

ACP : L'analyse en composantes principales

AG : Acide Gallique

AQ : Extrait aqueux

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

DO : Densité optique

DP : Dose pure

EAG : Equivalente Acide Gallique

GLM : Modèle linéaire généralisé

L.cam : *Lantana camara*

m : masse de l'extrait pur de plante (g)

ml : millilitres

MR : Mortalités

Phal : *Pinus halepensis*

PR : Populations Résiduelles

Ps : la prise d'essai

Rdt : Rendement

T. castaneum. : *Tribolium castaneum*

UV : Ultraviolet

v : volume de l'extrait (ml).

1/2D : Demi-Dose

1/4D : Un quart de Dose

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La conservation des céréales et leurs produits secondaires sont des problèmes à multiples interrelations. Les denrées stockées constituent le groupe de produits agricoles les plus échangés sur les marchés internationaux. Ils sont habituellement attaqués par les insectes au cours de leur entreposage.

L'Algérie n'échappe pas à ce problème où les dégâts provoqués seulement par les insectes dépassent de loin les 33% en période d'été, (température optimale de développement des insectes) (Mebarkia et *al.* 2006).

Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (Alzouma et *al.* ,1994; Fleurat-Lessard, 1994). Parmi les coléoptères, le Tribolium rouge de la farine (*Tribolium castaneum Herbst*) (Coleoptera: Tenebrionidae) parachève les dégâts (Markham et *al.*, 1994; Throne, 1994). Cet insecte se développe et se nourrit dans les denrées alimentaires, causant ainsi des pertes quantitatives et qualitatives.

Les pesticides chimiques figurent parmi les méthodes de protection les plus efficaces au niveau de stocks (Relinger et *al.* 1988 ; Haubruge et *al.* 1988 ; Hall, 1970). Les plus fréquemment utilisés sont les organophosphorés, les pyréthroïdes de synthèse et des produits composés à partir des matières actives appartenant aux deux familles (Gwinner et *al.* 1996).

Néanmoins, les effets indésirables dus à leur usage sont malheureusement très nombreux. Outre les cas de résistance des ravageurs cibles à ces produits, ces derniers provoquent aussi des effets nocifs sur la santé humaine et l'environnement. De nombreux travaux ont été menés dans le but de rechercher des méthodes de protection des denrées plus respectueuses de la santé humaine et de l'environnement. La recherche des méthodes alternatives de protection des denrées par l'usage des phytopesticides, produits issus de la biodiversité locale se présente aujourd'hui comme une piste sérieuse. Les extraits de plantes ont joué un rôle important pour la préservation des denrées stockées dans les greniers traditionnels en Afrique (Thiam et Ducommun, 1993).

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les molécules du métabolisme secondaire des plantes appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes. La littérature précise bien que leur rôle qui n'est plus à démontrer dans les systèmes de lutte, et dans la recherche phytopharmaceutique dans certains pays du monde.

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une véritable banque de ces molécules chimiques. Dans ce cadre, le but de notre contribution consiste à explorer le potentiel insecticide comparatif des métabolites secondaires extraits de deux plantes aromatiques choisies le pin d'Alep et le lantanier sur un modèle biologique des denrées stockées *Tribolium castaneum*.

Cette contribution est structurée dans quatre chapitres où nous présentons successivement les généralités sur les biopesticides d'origine végétale et les composés phénoliques puis la méthodologie de l'étude et le matériel utilisé et enfin les résultats obtenus avec une interprétation suivie par la conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I :

GENERALITES SUR LES BIO

PESTICIDES D'ORIGINE

VEGETALE ET LES COMPOSES

PHENOLIQUES

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

Introduction

Un biopesticide se définit étymologiquement comme tout pesticide d'origine biologique, c'est-à-dire, un organisme vivant ou toute substance d'origine naturelle synthétisée par ce dernier, et plus généralement tout produit non chimique de protection des plantes. La définition la plus large des biopesticides comprend les molécules de synthèse biologique incluant les molécules phytochimiques à caractère phytosanitaire ou biopesticides d'origine végétale.

La plupart des manuels actuels traitant de ravageurs des cultures ou de pesticides font davantage référence à l'arrivée des produits chimiques de synthèse au milieu du XX^e siècle et leur utilisation, que de l'usage de principe actifs d'extraits de plantes. Ces derniers sont d'actualité en ce début du XXI^e siècle en raison des choix de société qui se posent aujourd'hui à l'ensemble de notre planète, notamment la mondialisation et le développement. (Philogène et al, 2003)

1.1. Parmi les premiers pesticides naturels

L'évolution a doté les organismes biologiques de médiateurs chimiques impliqués dans les communications entre espèces et présentant une grande variété d'effet. Parmi ces composés, de nombreuses molécules à une action défensive contre les ravageurs ont été identifiées. Ainsi, plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (Grainge et Ahmed, 1988).

Historiquement, dès l'Antiquité, les chinois, les grecs et les romains utilisent des plantes ou extraits de plantes avec de soufre et de l'arsenic (NAS, 1969 ; Tschirley, 1979). Il a été rapporté que les romains utilisaient des poudres préparées à partir de *Veratrum* sp. Comme insecticide et rodenticides (Jacobson, 1983) tandis que des extraits d'ifs (*Taxus baccata*) ont été utilisés par certains peuples de l'hémisphère nord (Schmutterer, 1992). Sous les tropiques, l'utilisation du neem (ou margousier) (*Azadirachta indica* juss. (Meliaceae) est répertoriée dans le veda, ensemble de manuscrits datant d'au moins 4000 ans (Larson, 1989). Les extraits de plantes ont joué un rôle important pour la préservation des denrées stockée dans les greniers traditionnels en Afrique (Thiam et Ducommun, 1993).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

Dans la protection des végétaux cultivés, on a retrouvé, au XVIII^e siècle, des publications traitant des formulations à base de plantes pour lutter contre les insectes fléaux : en 1756 pour lutter contre les calandres des greniers, en 1773 *pour débarrasser l'hôtel des invalides des punaises* (Balachowsky, 1951). Cette observation est l'une des premières remarques à caractère scientifique sur l'activité d'extraits de plantes.

C'est d'ailleurs au cours de ce XVIII^e siècle que les grands naturalistes (Buffon, Linné, Réaumur), ont jeté les bases de la connaissance scientifique dans le domaine de la phytoprotection. Par la suite, des sociétés d'agriculture, fondées sur le modèle de celle de Rennes créée en 1757 et elle-même inspirée de celle de Dublin, essaimèrent dans toute la France (Boulaine, 1990) et devinrent le creuset de nouvelles approches de lutte contre les maladies et les insectes ravageurs des cultures, alliant à la fin du XIX^e siècle les approches de la lutte physique et chimique (utilisation de toxiques végétaux ou minéraux, badigeons d'huiles, goudrons, bouillies sulfocalciques, ébouillantage, etc.) à la lutte biologique (Pesson, 1990).

Ainsi, la conjugaison de pratique empiriques et des premières observations scientifiques a conduit au développement de l'utilisation d'extraits végétaux dès la fin du XIX^e siècle avec des succès plus ou moins marqués.

1.2. Première génération de molécules végétales insecticides

Les premières générations de pesticides sont essentiellement le résultat de l'utilisation de produits facilement disponibles comme l'arsenic et ses dérivés, les huiles animales et les molécules issues de plantes à usage traditionnel.

Au XIX^e siècle, seuls quelques composés d'origine végétale sont identifiés et abondamment utilisés comme répulsifs ou produits toxiques, parmi lesquels des alcaloïdes extraits du tabac, plante de la famille des Solanacées (*Nicotina tabacum*, *N. rustica* et *N. glauca*), la nicotine et son isomère l'anabasine, isolée d'une plante des steppes de Russie et des hautes plateaux nord-africains, *Anabasis aphylla.*, la nornicotine de *Duboisia hopwoodi*, plante australienne, la vératrine extraite d'une Liliacées spontanée des Balkans, *Veratrum album*, la ryanodine identifiée dans le genre *Ryania*, principalement *R. speciosa* en Amazonie.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

Une deuxième famille de molécules est représentée par la roténone et les rétinoïdes et une troisième par les pyréthrinés. Mentionnons aussi une autre catégorie de produits d'origine végétale, plus complexe et hétérogène : les huiles végétales.

1.2.1 Nicotine

L'introduction du tabac en Europe fût réalisée par Sir Walter Raleigh en 1585. Dès 1690, des extraits aqueux de tabac étaient utilisés contre les insectes piqueurs-suceurs des plantes vivrières. En 1828, le principe actif de cette plante, la nicotine a été isolé par Posselt et Reimann, alors que Pictet et Rotschy en réussissaient la synthèse en 1904 (Matsumura, 1975 ; Ware, 1980). Cet alcaloïde ($C_{10}H_{14}N_2$) (figure 1), très stable et présentant une grande toxicité sur les insectes agit à la fois comme poison cardiaque et neurotrope. Seule la nicotine naturelle possède des propriétés insecticides.

Sa volatilité en fait un excellent insecticide par inhalation mais sa stabilisation sous forme de sels sulfate, oléate ou stéarate, le transforme en un insecticide par ingestion plus actif que l'alcaloïde seul (Dajoz, 1969). Toutefois la nicotine se révèle également très toxique pour les mammifères : mimétique de l'acétylcholine, elle se lie aux récepteurs post-synaptiques et provoque de ce fait une stimulation suivie de dépression des ganglions du système végétatif, des terminaisons des nerfs moteurs dans les muscles striés et le système nerveux central. La mort survient par paralysie des muscles respiratoires et la dose mortelle pour l'homme est de 50 à 60 mg *per os* (Lauwerys, 1990). Cette toxicité va limiter son emploi comme produit phytosanitaire. Elle est principalement utilisée, dans des préparations complexes sous forme de sulfate en solution alcaline ou avec des savons, comme fumigant ou en aérosol de contact dans les serres (Weinzerl, 1998).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S



Figure 1 : Champ de plants de tabac

(Source : https://fr.wikipedia.org/wiki/Nicotine#/media/File:Tabak_9290019.JPG)

1.2.2. Autres alcaloïdes

Les propriétés insecticides d'autres alcaloïdes végétaux ont été mises en évidence. Les deux premières sont des dérivés de la nicotine. L'*anabasine*, extraite pour la première fois d'une famille de Chénopodiacées de la mer Caspienne par Orechov en 1929, a été vendue en Europe et en Amérique sous le nom de « nicotine russe ». C'est un isomère de la nicotine pour lequel on constate une grande variabilité dans la sensibilité des espèces. Ainsi, l'anabasine est plus toxique que la nicotine pour le puceron *Aphis rumicis*, tandis que les larves de moustiques y sont moins sensibles : le rapport de toxicité anabasine/nicotine est de 38%. La *nornicotine*, alcaloïde dextrogyre extraite de *Duboisia hopwoodi*, diffère de la nicotine par l'absence d'un groupe méthyle dans la molécule. Les modes d'action de ces deux composés sont similaires à celui de la nicotine.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

La *vératrine* a été extraite d'une plante endémique des Balkans, *Veratrum album*, mais aussi d'une Liliacée vénézuélienne nommée *Sabadilla*, Sébadille ou *Indian caustic barley* (*Schoenocualon officinale* Sch. et Champ). Utilisée en Europe contre les pucerons du groseillier (*Pteroneus ribesii* Scop), elle servait à détruire les poux du bétail des fermiers de l'Amérique tropicale.



Figure 2: Veratrum album

(source :https://en.wikipedia.org/wiki/File:Veratrum_album_subsp._oxysepalum_0807.JPG)

La sébadille est en fait un mélange d'alcaloïdes comprenant la cervadine, la vératridine, la sabadilline, la sabadine et la cervine. Elle a été utilisée en Amérique à une époque où il manquait de nicotine et autre insecticides de contact. Ces alcaloïdes développent la même activité neurotoxique que les pyrèthres en ralentissant la fermeture des canaux Na^+ dépendant. En conséquence la vératridine, perturbant la dépolarisation membranaire, provoque une paralysie avant la mort (Bloomquist, 1996). D'une dégradation rapide à l'air ou au soleil, ces alcaloïdes sont par ailleurs toxiques pour les abeilles et de ce fait, ne sont plus utilisés que de manière marginale en l'agriculture biologique (Weinzerl, 1998).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S



Figure 3 : *Sabadilla*, Sébadille ou *Indian caustic barley*

(Source : <http://guidehomeo.com/sabadilla/>)

Un autre alcaloïde insecticide des Liliacées du genre *Ryania*, originaire de Trinidad et du bassin amazonien, la *ryanodine* ($C_{26}H_{37}NO_9$), a été introduire en 1945 sur le marché américain. Ce principe actif, 20 fois plus toxique pour les mammifères que pour les insectes, ne semble pas mettre en péril les insectes bénéfiques (Dethier, 1976) tandis qu'il présente pour le papillon nuisible de la canne à sucre, *Pyraustia nubilabis*, une toxicité comparable à celle du DDT (Dajoz, 1969). Toutefois son mécanisme d'action est différent puisque sa toxicité affecte la conduction de l'influx nerveux dans le muscle au niveau des canaux Ca^{2+} , ce qui engendre une concentration soutenue de muscle pouvant s'accompagner de paralysie (Bloomquist, 1996). Comme la roténone, les extraits de *Ryania* ont une persistance, dans les champs, plus longue que les autres insecticides d'origine végétale puisqu'on retrouve des résidus 3 à 5 jours après leur application sur les feuilles (Weinzerl, 1998). Quelques usages spécifiques de ces composés en association avec des insecticides de synthèse ont été rapportés (Day et al, 1995).

D'intérêt comparable très secondaire, la *quassine*, constituée de deux isomères dextrogyres la quassine et la néoquassine de formule brute $C_{22}H_{20}O_6$ est extraite d'arbres exotiques dont le *cassia amara* L. du Surinam et le *picrasma exelca* Swz. de la Jamaïque. Elle a été utilisée pour lutter contre le puceron vert du pêcher (*Hyalopterus arundinis* F.) dans la vallée du Rhône et les holocampes du prunier (*Holocampa flava* et *H. minuta*) en Allemagne et en Italie du Nord (Balachowsky, 1951). L'ensemble de ces molécules n'a pas connu le même succès que la nicotine.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUES



Figure 4 : *Ryania*

(Source : <http://flickeflu.com/photos/52033111@N08/interesting>)



Figure 5: *Cassia amara* L

(Source : « Vue panoramique de Anse Petite Marie-Louise - Mahé – Seychelles »)

1.2.3. Roténone et rétinoides

La roténone (**figure 10**) s'est révélée un composé phytosanitaire du plus haut intérêt. Dès 1665, il avait été observé que les populations autochtones de l'Amérique latine se servaient des racines pulvérisées de certaines légumineuses pour attraper les poissons d'eau douce. En 1848, ces extraits venaient s'ajouter aux préparations insecticides en usage (McEwen et Stephenson, 1976). Le principe actif, un dérivé flavonoïde, isolé par Geoffroy en 1895 du *Lonchocarpus nicou*, une Papilionacée d'Amérique, est appelé nicouline, alors que le nom actuel, roténone, est le résultat des travaux de Nagai qui extrait en 1902 la même substance des racines de *Derris elliptica* dont le nom japonais est *roten* (Dajoz, 1969 ; Matsumura, 1957). On trouve la roténone en abondance dans 67 espèces de Papilionacées, les *Derris* originaires de Malaisie et de des Indes Orientales, et dans les *Lonchoarpus* d'Amérique latine. Aux Etats-Unis, c'est du *Tephrosia virginiana* que sera extraite la téphrosine, un isomère.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

La roténone est le plus actif des composés rétinoides à action insecticide dont la digueline (extraite de *Deguelia* d'Afrique), le toxicarol (*Tephrosia toxicaria* d'Amérique centrale), la téphrosine (*Tephrosia virginiana*), l'elliptone, le malacol, le sumatrol, etc. qui ont été isolés de ces plantes.



Figure 6 : *Lonchocarpus nicou*

(Source :https://fr.wikipedia.org/wiki/Lonchocarpus#/media/File:Lonchocarpus_punctatus_Fleurs.JPG)



Figure 7 : *Tephrosia virginiana*

(Source : http://nymf.bbg.org/profile_photo_large.asp?id=1952&img=537)

La roténone est particulièrement attrayante car elle n'agit pas sur le système nerveux mais sur les mécanismes de la respiration cellulaire.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

Elle est inoffensive pour les animaux à sang chaud administrée *per os*, mais en revanche très active sur les animaux à sang froid : batraciens, poissons, reptiles. Elle inhibe les oxydations Cellulaires en interrompant le transfert dans la chaîne respiratoire, portant atteinte au métabolisme énergétique mitochondrial. Les estimations de sa toxicité chez les mammifères sont très hétérogènes, allant de DL₅₀ de 60 mg.kg⁻¹ à 1 000 mg.kg⁻¹

(Hayes, 1982 cité par Weinzerl, 1998) soit une valeur moyenne de 500 mg.kg⁻¹ (Lauwerys, 1990).

Bien que peu toxique pour l'homme, des accidents ont cependant été constatés s'accompagnant d'une inhibition de la NADH oxydase. Mais ce sont surtout des différences d'absorption, de distribution et de biotransformation qui interviennent dans l'expression et dans l'intensité de la toxicité. Des cas de toxicité chronique ont été rapportés, se manifestant par des atteintes hépatiques et rénales, et en outre carcinogènes chez les rongeurs.

Cette famille de composés souvent associée avec des pyréthrinoïdes, des extraits de *Ryania*, du cuivre ou des sulfures, connaît un regain d'intérêt lié à son utilisation dans l'agriculture biologique. En effet, Weinzerl, (1998) rapporte qu'elle est active contre le doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). La roténone persiste 3 à 5 jours sur le feuillage après son application, durée qui peut être réduite par l'utilisation de mélanges comme les savons ou les solutions alcalines.

1.2.4. Pyrèthres

Au XIX^e siècle, les populations du Trans-Caucase asiatique utilisaient des insecticides botaniques obtenus à partir de fleurs moulues de *Chrysanthemum*. Pendant les guerres napoléoniennes, on utilisait ces préparations végétales pour se débarrasser des poux (Ware, 1991). Les pyrèthres sont isolés de plantes appartenant à la famille des Astéracées. Les *Chrysanthemum (Pyrethrum) cinerariaefolium*, ou pyrèthre de Dalmacie, d'abord cultivé commercialement au Japon et en Yougoslavie, provenant surtout du Kenya, de la Tanzanie et de l'Equateur.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S



Figure 8 : Fleurs moules de *Chrysanthemum*

(Source : <http://nathalieenherbe.com/fleurs-comestibles-au-menu-2ieme-partie>)

D'autres espèces de chrysanthèmes, *C. roseum*, *C. tamrutense* et *C. carneum* se sont révélées des sources de pyrèthres (Djaoz, 1969). Les substances actives contre les insectes sont contenues dans les fleurs. Elles doivent leurs activités insecticides au pyrèthre (**figure 10**), un mélange d'ester : pyréthrine I et II, cinérine I et II, et jasmoline I et II. Les pyréthrine sont les plus abondantes. Les quatre ester les plus abondants ont des toxicités très différentes : (pyréthrine I : 100 % de toxicité relative, pyréthrine II : 23 %, cinérine I : 71 et cinérine II 18 %).

En raison de son action rapide sur les insectes (effet «*Knock down*»), le pyrèthre a connu un énorme succès qui a été accentué par l'addition de synergistes d'origine végétale, comme le pipéronyl butoxyde [PBO] qui diminuent son instabilité.

Le pyrèthre agit en perturbant la conduction nerveuse par un ralentissement de la fermeture des canaux Na^+ au cours de la phase de reconstitution du potentiel d'action des neurones. En conséquence, l'insecte présente une hyperactivité suivie de convulsions (revue par Weinzerl, 1998). Aussi, c'est toujours un produit sanitaire phytochimique très utilisé commercialement, malgré son cout élevé de production. Il est utilisé en association avec de la roténone et de l'extraits de *Ryania* dans des formulations destinées aux jardins des maisons ou dans le traitement de certains produits alimentaires en raison de l'absence de résidus, (Weinzerl, 1998).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

Cependant, sa photolabilité, a conduit, très tôt, à rechercher de dérivés plus stables : les pyréthriinoïdes de synthèse qui constituent aujourd'hui un pilier de la lutte phytosanitaire tant agricole que domestique.

1.2.5. Huiles végétales

Les huiles ont été utilisées très tôt dans la lutte contre les insectes sous forme d'émulsions. Ce sont à la fois des insecticides de contact qui agissent par leurs propriétés physiques et chimiques, et des adjuvants pour des molécules liposolubles et, dans certains cas, des synergistes.

Les huiles végétales ou animales à poids moléculaire élevé, sont des esters d'acide gras extraits d'organismes biologiques (par exemple les huiles d'arachide et d'olive, ou de baleine et de dauphin), (Balachowsky, 1951). Leur toxicité se reflète de différentes manières : par inhalation provoquée par leur richesse en composés volatils, par contact qui provient de la formation d'un film imperméable, provoquant l'asphyxie de l'insecte, et par pénétration en profondeur grâce au caractère amphibolique de certains de leurs composés. Certains acides gras possèdent une activité insecticide propre qui peut augmenter par potentialisation, la toxicité d'autres composés (Regnault-Roger et Caupin, 1991). La toxicité des acides gras s'exerce par la rupture des membranes cellulaires, de la phosphorylation oxydative, et de la cuticule des insectes (revue par Weinzerl, 1998).

Aujourd'hui, les huiles sont particulièrement utilisées aux Etats-Unis pour la protection des vergers, en particulier les pommeraies où les insectes ravageurs, *Dysaphis plantaginea* (Passerini) et *Panonychus ulmi* (Koch) sont devenus résistants aux organophosphorés, carbamates et pyréthriinoïdes (Weinzerl, 1998).

1.3. Deuxième génération de molécules insecticides d'origine végétale

Le deuxième développement des insecticides d'origine végétale a donné naissance à l'écologie chimique. Maintenant, chimistes, physiologistes, biochimistes, toxicologues et spécialistes de la protection des végétaux unissent leurs efforts dans la recherche de nouvelles molécules d'origine végétale susceptibles de lutter

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

efficacement contre les déprédateurs, avec un minimum de problèmes pour l'environnement. Parallèlement, une démarche purement chimique cherchait à

Modifier les molécules d'origine végétale pour créer des composés plus faciles d'emploi. Ces composés d'hémi synthèse furent commercialisés plus vite que les molécules identifiées et extraites dans les végétaux (Philogène et al, 2003)

1.3.1. Les pyréthriinoïdes de synthèse

Les pesticides pyréthriinoïdes sont apparus dans les années 1970 et sont les analogues synthétiques des pyréthrines naturelles, qui présentent l'avantage d'être stables à la lumière ayant un pouvoir insecticide, et une faible toxicité pour les mammifères. Les pyréthriinoïdes présentent une toxicité sélective importante ciblant principalement les insectes, la dose létale 50 (LD50) reconnue pour des rats est de 2 000 mg/kg comparativement à celle des insectes 0.45 mg/kg. Ils présentent aussi l'avantage d'être facilement dégradés et peu persistants dans la nature, disparaissant par hydrolyse, photolyse et par les micro-organismes. (Fournier, 1988)

1.3.2. Azadirachtine

L'azadirachtine est un composé d'origine naturelle de la famille des limonoïdes. C'est un métabolite secondaire présent dans l'huile extraite des graines d'*Azadirachta indica* (le margousier, ou neem), il est aussi présent dans toutes les parties de *Melia azedarach*. C'est un tétranortriterpénoïde hautement oxydé et présente une grande variété de fonctions oxygénées.

L'huile de neem (pureté 4,5% m.a) a une toxicité faible avec une DL50 supérieure à 5000 mg/kg pour le rat. L'azadirachtine est très toxique pour la faune aquatique type poisson, mais le fait qu'elle soit fortement absorbée par le sol et dégradée rapidement empêche une contamination des eaux. (Étude ARLA Santé Canada ,2012) Anonyme

L'azadirachtine est particulièrement sensible aux U.V (photolytique) et au pH. L'hydrolyse, la phototransformation et la biotransformation sont donc ses principales voies de transformation. Les résidus issus de sa dégradation sont variables selon le pH (spécificité à l'acidité du milieu). (BARREK, et al, 2009)

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S



Figure 9 : Arbre de Neem ou Margousier en Inde *Azadirachta indica* A. (Juss, 1830)

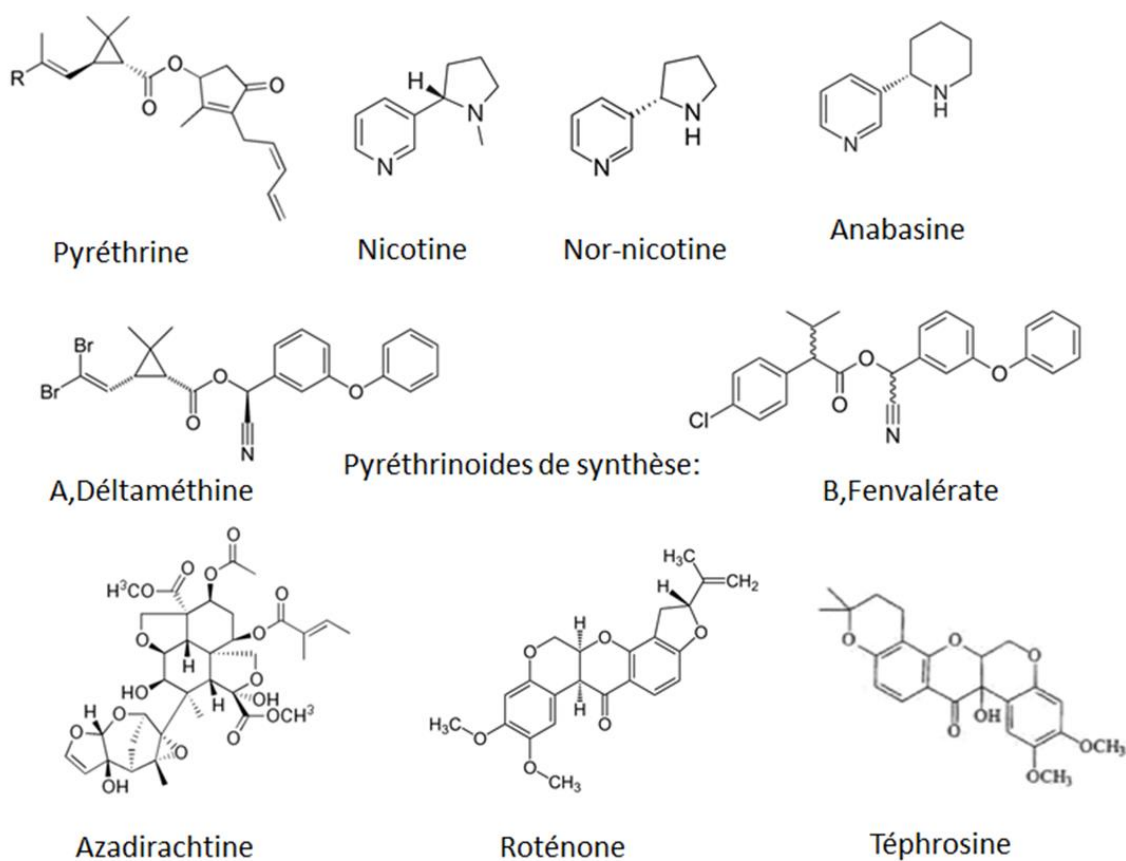


Figure 10 : Quelques insecticides d'origine végétale (McEwen et Stephenson, 1976)

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

1.4. Les composés phénoliques

Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe diversifié de composés chimiques d'origine naturelle. Ils sont synthétisés par la plante en réaction à des stimuli extérieurs. Ces substances ont souvent une fonction régulatrice à la suite d'un stress environnemental ou d'une attaque par des ravageurs, (Brandt et *al.* 2001) et ont été décrits par Harborne (1988) pour avoir des activités importantes sur la résistance des plantes contre les insectes et les micro-organismes. Les principales grandes familles de métabolites secondaires sont représentées par les terpènes, les alcaloïdes, et les molécules dérivées de composés phénoliques.

1.4.1. Présentation des polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire ayant tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Selon Urquiaga et Leighton, (2000), plus de 8000 structures phénoliques ont été identifiées.

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. Ils peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou leur permettent de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. D'après Macheix et *al.* (2005), ces molécules, sur le plan thérapeutique, constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales.

Les flavonoïdes, les tanins, les dérivés phénylpropanoïdes tels que les lignanes, les esters et amides hydroxybenzoïques, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxybenzoïques, les xanthones et de nouveaux composés sont identifiés continuellement parmi ces molécules (Marouf, 2000 ; Hopkins, 2003 ; George et *al.* 2005).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

1.4.2. Classification des polyphénols

Les composés phénoliques sont une classe qui constitue 8000 composés. Ils sont divisés en plusieurs catégories : les acides phénoliques ; les flavonoïdes ; les tanins obtenus par polymérisation des flavonoïdes ; les lignanes avec les isoflavones nommés phyto-oestrogènes (SFA, 2005). Les principaux composants phénoliques comme indiqués par Roberau -cayau, (1986) sont l'Acide cinnamique, les Flavonols (kaempférol ;quercétine ;myricétine), l'Anthocyanidine et la Leucoanthocyanidine (Figure 11)

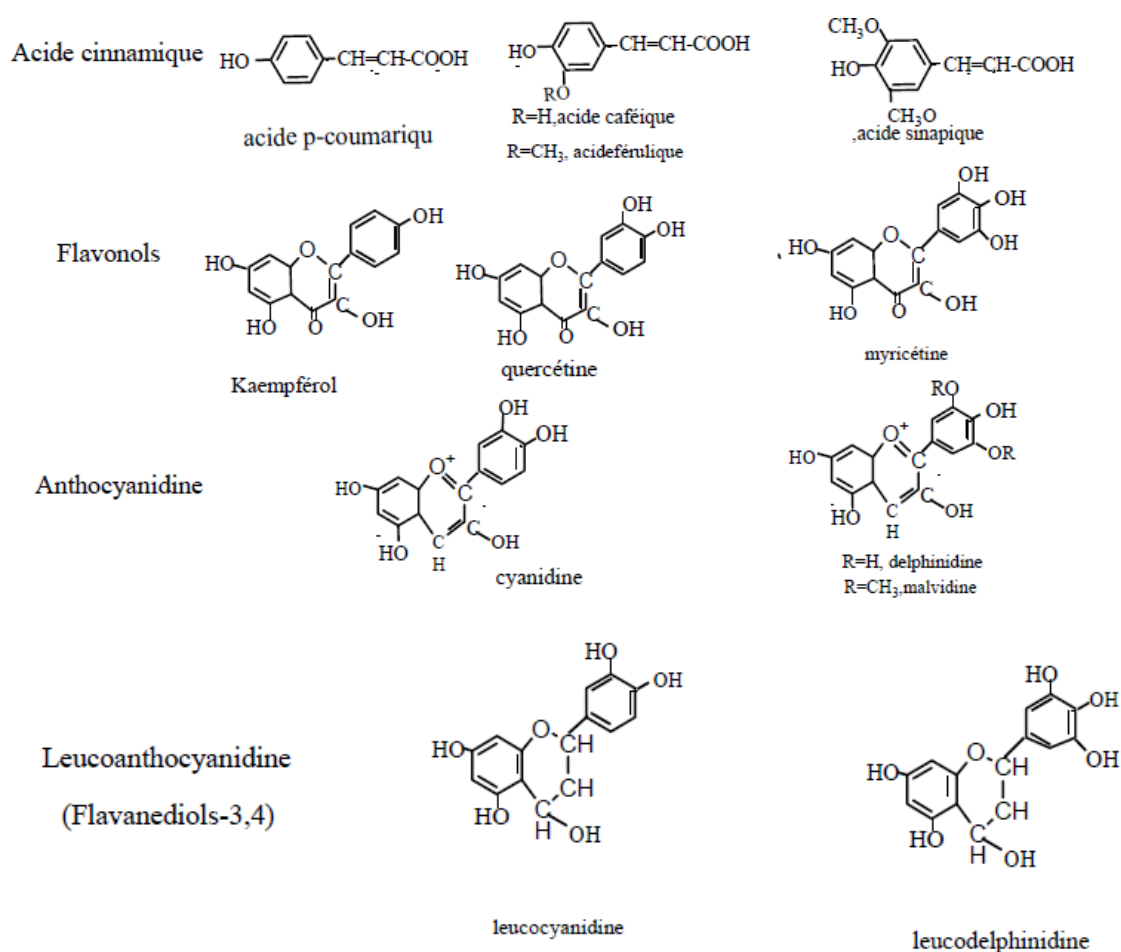


Figure 11 : Principaux composant phénolique (Roberau-Cayau, 1986).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BIO PESTICIDES D'ORIGINE VEGETALE ET LES COMPOSES PHENOLIQUE S

1.4.3. Biosynthèse des polyphénols :

La biosynthèse des polyphénols se fait par deux voies principales : La voie de l'acide shikimique et la voie de l'acide malonique.

Durant la voie de l'acide shikimique, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (Haslam 1994 ; Dewick, 1995). Au courrant de la voie l'acide malonique, la glycolyse et la B-oydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Fleeger et Flipse 1964 ; Richter 1993) (Figure 12)

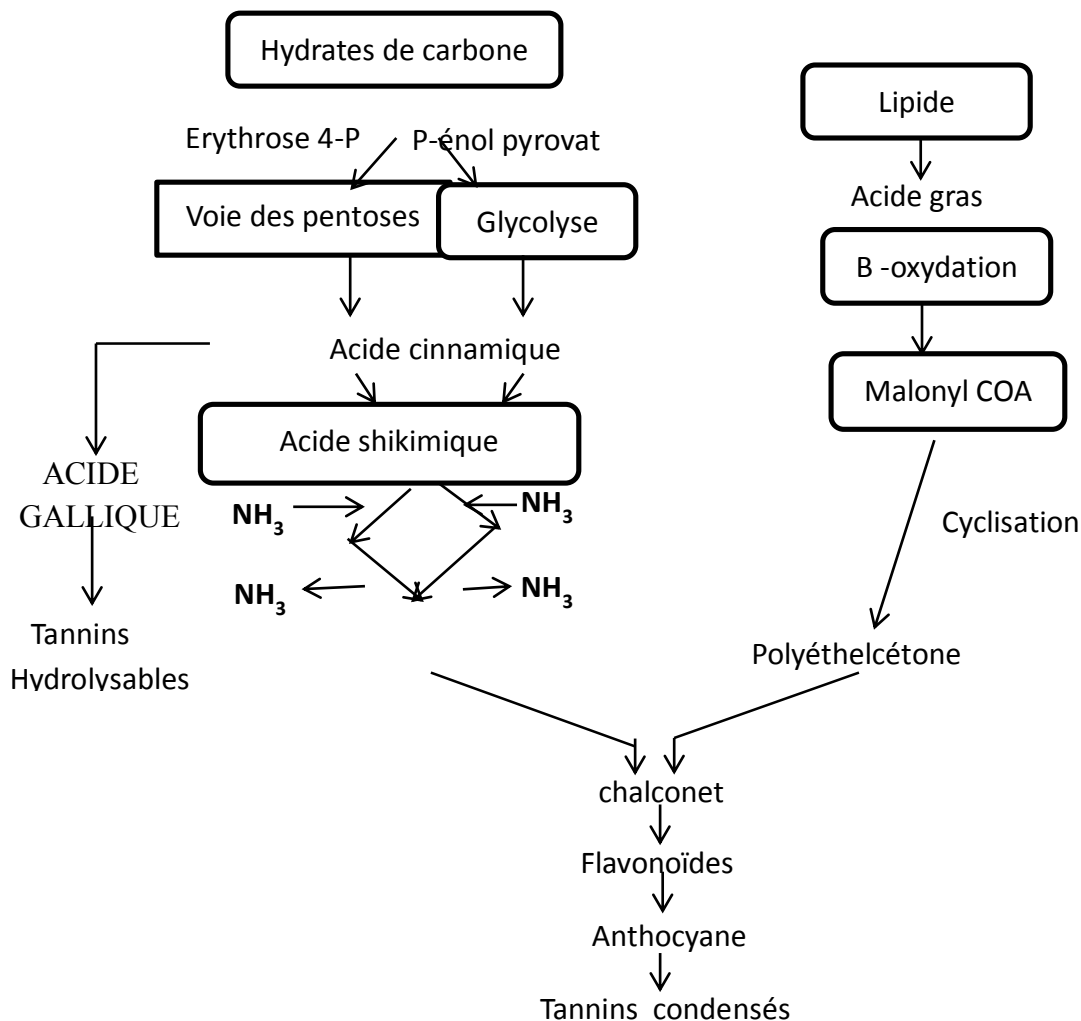


Figure 12 : Représentation des voies de biosynthèse des polyphénols (Fleeger et Flipse 1964 ; Richter 1993)

CHAPITRE II :
MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

Partie1 : Présentation de l'espèce étudiée *Tribolium castaneum* Herbst

Les ravageurs des denrées stockées présentent une grande diversité d'espèces. Le choix du modèle biologique testé *Tribolium castaneum* (figure 13) se justifie par la gravité des dégâts et l'importance économique sur la production céréalière en Algérie. L'espèce est nuisible aussi bien à l'état adulte qu'à l'état larvaire. Durant le printemps, l'été et l'automne, on trouve dans les substances infestées tous les états du cycle biologique de l'espèce. Par contre en hiver, seuls les adultes sont présents sur la denrée (LEPIGRE, 1966).



Figure 13: *Tribolium castaneum* Herbst

(Source: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Tribolium_castaneum.jpg)



Vue dorsale



Vue latérale



Vue ventrale

Insecte adulte (Imago)

Figure 14 : Adulte de *Tribolium castaneum*. Vues dorsale, latérale et ventrale

(STEFFAN, 1978).

La nymphe constitue l'état idéal de vie de cet insecte (**figure 15**) et permet de distinguer les mâles des femelles. D'autres caractères peuvent intervenir dans la

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

détermination du sexe chez cette espèce telle que la taille (les femelles sont plus grandes que les mâles) ainsi que l'extrémité abdominale des nymphes (**figure 15**)

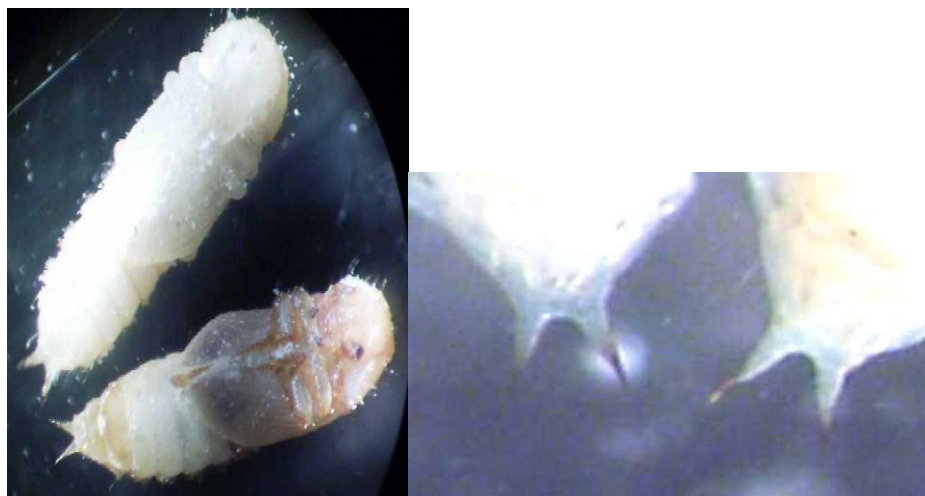


Figure 15 : Nymphes de *Tribolium castaneum*. Vues dorsale et ventrale (STEFFAN, 1978) et extrémités abdominales de la pupa de *Tribolium castaneum* Mâle (à gauche) et femelle (à droite), (STEFFAN, 1978).

1.1. Position systématique :

L'insecte étudié fait partie de la classification suivante :

Embranchement : Arthropodes.

Classe : Insectes.

Ordre : Coléoptères.

Sous-ordre : Polyphaga.

Super famille : Cucujoidea.

Famille : Tenebrionidae.

Sous-famille : Ulominae.

Genre : *Tribolium*.

Espèce : *T. castaneum* *Herbst.*

1.2. Origine et répartition géographique :

Tribolium castaneum H. est une espèce cosmopolite. Selon Lapesme (1944), elle peut être originaire de l'Inde car dans cette région, on la trouve d'une manière courante sous l'écorce des arbres forestiers. Néanmoins, il a été retrouvé également dans ces conditions en Amérique du Nord. LUCAS in (LEPESME, 1944), l'a découvert sous

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

les écorces de liège dans les environs d'Oron et de Skikda. On le retrouve actuellement dans le monde entier par la voix des échanges commerciaux.

1.2. Habitat, régime alimentaire et dégâts :

C'est un ravageur xylophage très commun dans les moulins et les entrepôts des produits alimentaires, (LEPESME., 1944). Cependant, il s'est adapté à un régime alimentaire à base de céréales et dérivées amylacées. BURKHARD in (LEPESME., 1944) prétend qu'il peut attaquer les grains entiers, en se tenant toute fois au germe. DENDY et ELLIGTON in (LEPESME, 1944) ont émis une opinion contraire.

Les triboliums parachèvent les dégâts des charançons (STEFFAN, 1978). Selon les dégâts et sont d'autant plus importants que les grains sont plus humides DANIEL (1956). Les adultes possèdent des glandes produisant un liquide nauséabond riche en quinones qui communique à la denrée une odeur qui la déprécie, (STEFFAN, 1978).

Tribolium castaneum H. préfère les fruits secs, les épices, divers produits exotiques comme le cacao ou le tapioca et les oléagineux, les grains de (riz, blé, orge et maïs), les farines, la semoule, les gâteaux secs (LEPIGRE, 1966).

1.3. Description du cycle biologique :

L'accouplement des adultes a lieu 48 heures après l'émergence des imagos et dure environ 15 minutes. La ponte commence le troisième jour après l'émergence et s'échelonne durant toute la vie de la femelle.

La durée de l'embryogenèse est fonction de la température. Elle dure neuf jours en moyenne à 22 C°, alors qu'elle n'est que de 3,5 jours en moyenne à 28 C°. La durée d'incubation des œufs est plus courte, elle est de 2,6 jours à 35 °C et 85% d'humidité relative. Dès l'éclosion, la jeune larve se montre active : elle sillonne la denrée dans tous les sens. Elle subit au total huit à neuf mues. La taille des larves (**figure16**) constitue un critère essentiel pour la distinction des différents stades larvaires. La durée des stades larvaires varie en fonction de la température et de l'humidité, elle est plus longue à 28°C et 75 % HR qu'à 35°C et 85 % HR.



Figure 16 : Stades larvaires de *Tribolium castaneum* (STEFFAN, 1978).

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

Relative. Dès l'éclosion, la jeune larve se montre active : elle sillonne la denrée dans tous les sens. Elle subit au total huit à neuf mues.

La taille des larves constitue un critère essentiel pour la distinction des différents stades larvaires. La durée des stades larvaires varie en fonction de la température et de l'humidité, elle est plus longue à 28°C et 75 % HR qu'à 35°C et 85 % HR.

La durée du cycle biologique varie 1 à 4 mois suivant les conditions de température et d'humidité relatives. (BOUNACEUR . , 1992).

D'après STFFAN (1978) la durée du cycle la plus courte est de 15 à 20 jours à des températures de l'ordre de 35 à 36°C et une HR de l'ordre de 90%.

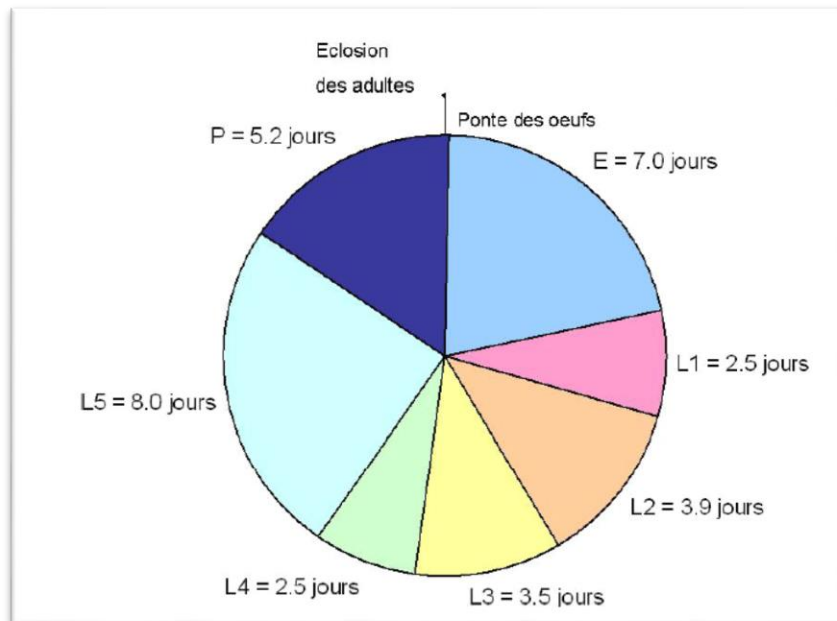


Figure 17 : La durée de développement des stades successifs du *Tribolium castaneum* (30°C, h. rel. 75 %, nourriture mixte)

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

Partie 2 : Matériel Végétal : *Lantana camara* Linn. et *Pinus halepensis* Mill

2.1. Le genre *Lantana* sp :

Le genre *Lantana* comprend 150 espèces originaires d'Amérique du Sud (Cabanis, 1969 ; Chabouis et Chabouis 1970). Ces espèces sont réparties principalement en Amérique tropicale et subtropicale, mais aussi en Asie et en Afrique. Généralement, ils se présentent sous forme d'arbustes, parfois d'arbrisseaux, à feuilles opposées ou verticillées par 3. Inflorescences en épis cylindriques ou capituliformes. L'espèce la plus connue du genre est *Lantana camara* L. Ce buisson, largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique et d'Amérique, est souvent prisé des horticulteurs pour ses fleurs en forme de capitules jaunes et orange.

2.1.1 L'espèce *Lantana camara* Linn :

2.1.1.1. Généralités :

Lantana camara, le thé de Gambie, mille fleurs, Corbeille d'or ou lantanier est une espèce d'arbuste de la famille des Verbénacées. Elle fut introduite vers 1650 en Europe. *Lantana camara* est parmi les espèces ornementales les plus utilisées dans le Sahara (climat chaud) car elle résiste aux conditions très sévères, même la taille en plein été. Elle est devenue tropicale et s'est naturalisée dans de nombreux pays. (Cavalli, 2002). Il s'agit d'une plante aimant les grandes expositions au soleil et vivant uniquement en milieu sauvage, très résistante aux conditions climatiques des pays chauds.

Cette plante se révèle assez toxique car elle bloque certaines fonctions hépatiques et est à proscrire de toute thérapeutique (Boiteau, 1986). Certains extraits (éther de pétrole, éthanol, etc...) obtenus à partir des feuilles de *Lantana camara*, ont des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques (Forestieri et al. 1996).

Lantana camara se propage grâce aux fruits consommés par les oiseaux. Le fait que leurs feuilles ne sont pas comestibles pour les animaux, les font considérer comme des pestes végétales, surtout dans les îles hautes du Pacifique où ils peuvent pousser en buissons impénétrables étouffant la végétation indigène.

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

2.1.1.2 Classification :

Selon CARLVONLinné, 1753, (cité in Anonyme, 1981), l'espèce *Lantana camara* Linn., est classée comme suit : Règne : *Plantae*, Sous-règne : *Tracheobionta*, Division : *Magnoliophyta*, Classe : *Magnoliopsida* Sous-classe : *Asteridae*, Ordre : *Lamiales*, Famille : *Verbenaceae*, Genre : *Lantana*

1.2.3. Description botanique:

Le *Lantana camara* est un arbuste plus ou moins épineux de 1,5 à 3 mètres de haut (Cabanis Y., Chabouis L., Chabouis F., 1969-70). Les tiges et les rameaux secondaires sont quadrangulaires, hérissés de nombreuses épines et crochets, orientés vers le bas et disposés sur l'arête des tiges (figure 18) (Cavalli, 2002). Les feuilles simples sont opposées en croix et possèdent un limbe rugueux (ovale), terminé en pointe et denté régulièrement. Les nervures sont saillantes sur la face inférieure. La plante possède également des poils épidermiques sécréteurs, (Cavalli, 2002).

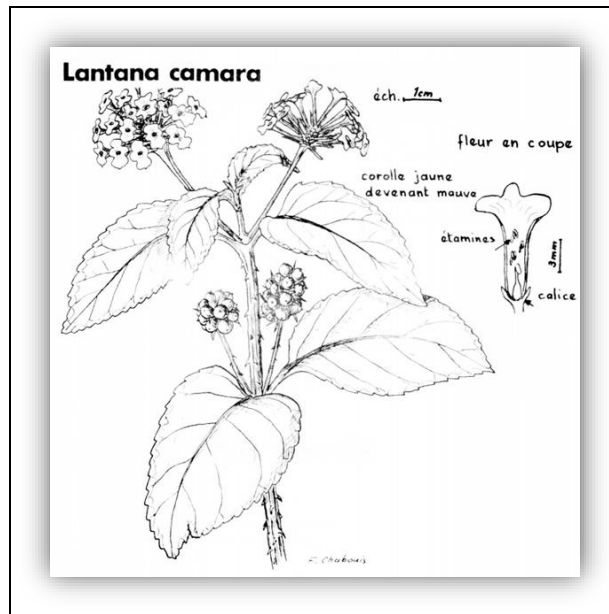


Figure 18 : Caractéristiques botaniques de *Lantana camara* L.

L'inflorescence axillaire est en capitule hémisphérique constituée de 30 à 50 petites fleurs jaune orangé, tournant au rose en vieillissant. Les fruits sont noirâtres et drupacés (fruit charnu à noyau), fruit toxique lorsqu'il est vert car il renferme des acides tri- terpéniques, toxiques pour l'homme et le bétail. La floraison et la fructification se déroulent presque toute l'année, (Cavalli, 2002)

CHAPITRE II : Matériels et méthodes



Figure 19 : Feuilles, fleurs et fruits de *Lantana camara* L.

(Source : <http://www.botanical-online.com/florlantanacamaraangles.htm>)

1.2.1.4. Composition chimique :

Le plant de *Lantana camara* a été complètement étudié pour ces compositions chimiques (tableau 1), avant et actuellement (Saleh 1974, Hart et *al.*, 1976, Sharma et Sharma 1989, Siddiqui et *al.*, 1995, Ghisalberti, 2000). Ces études ont révélé la présence de terpénoides, Stéroïdes et alcaloïdes comme constituants chimiques majeures.

Tableau 1 : Composition phytochimique des feuilles et des fleurs de *L. camara* (Erlânio et *al.*, 2010).

Métabolites Secondaires	<i>L.camara</i>							
	jaune		Lavande		rouge		blanche	
	feuille	fleur	feuille	fleur	feuille	fleur	feuille	fleur
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	+	+
Phénolique	+	+	+	+	+	+	+	+
Terpenoid	+	+	+	+	+	+	+	+
Phytosterols	+	+	+	+	+	+	+	+
Stéroïde	-	-	-	-	+	-	+	-
Tannins	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponines	+	+	+	+	+	+	+	+

+ =Présent ; -=Absent

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

Cependant, les sesquiterpènes avec principalement le β -caryophyllène, le zingibérène, humulène, arcurcumène, gemacrème-D et bisabolène sont rapportés comme étant des constituants majeurs de l'huile essentielle des feuilles et des fleurs (Singh et *al.*, 1991, 2002, Nagassoum et *al.*, 1999, Khan et *al.*, 2002, Andersson et Dobson, 2003).

2.2. Le Pin d'Alep :

Le **Pin blanc de Provence** ou **Pin d'Alep** (*Pinus halepensis*) (figure 20) est un conifère de la famille des Pinacées. C'est le botaniste écossais Philip Miller qui lui donne abusivement ce nom scientifique, en 1768. En effet, c'est le *Pinus brutia* qui pousse principalement dans la région d'Alep. Sa répartition géographique est essentiellement autour des côtes méditerranéennes, et plus particulièrement en Afrique du Nord et en Espagne. Il est parfois appelé **Pin blanc** ou **Pin de Jérusalem**.



Figure 20 : Pin d'Alep (*Pinus halepensis*) (LADJAL ,2012)

Le bois du pin d'alep est utilisé en caisserie, pour la fabrication de pâte à papier et de poteaux, si sa forme le permet. C'est un bois parfait pour la construction de pilotis ou de bateaux. Le gommage du pin d'alep n'est plus pratiqué actuellement. Pourtant c'est l'espèce la plus productive de résine (1 à 4 kg / arbre / an), et elle donne une essence de térébenthine très appréciée.

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

2.2.1. Classification et description :

La classification du pin d'Alep se présente comme suit : Règne : Plantae, Division : Pinophyta, Classe : Pinopsida, Ordre : Pinales, Famille: Pinaceae, Sous-famille : Pinoideae, Genre: *Pinus*, Nom binominal: *Pinus halepensis* Mill.

Le pin d'Alep est un arbre à la silhouette irrégulière. Le tronc est souvent penché ou tortueux, les branches étalées, le feuillage clairsemé et disposé en touffes avec une cime aplatie. Il peut atteindre 20 mètres au maximum et sa durée de vie est de l'ordre de 200 ans. L'écorce, d'abord lisse et gris cendré, devient crevassée, et se teint de brun, parfois brun-rouge. Les feuilles (figure 21) sont des aiguilles rattachées par 2 (rarement par 3) et mesurent de 5 à 10 cm de long. Ce sont les plus fines aiguilles des pins européens. Elles sont souples, vert gris pale, essentiellement disposées à l'extrémité des rameaux, en formant un pinceau. Elles ne persistent que 2 à 3 ans. Les rameaux sont vert clair, puis gris clair, plutôt grêles, ils émettent souvent, fait remarquable, une seconde pousse dans l'année. Ils portent des bourgeons non résineux, ovoïdes et pointus, dont les écailles sont frangées de blanc. Les fleurs mâles sont des chatons jaunes ou teintés de rouge, tandis que les inflorescences femelles sont rougeâtres (figure 21); la fructification ne débute guère avant 20 ans. (CZECZOTT et al, 1954)

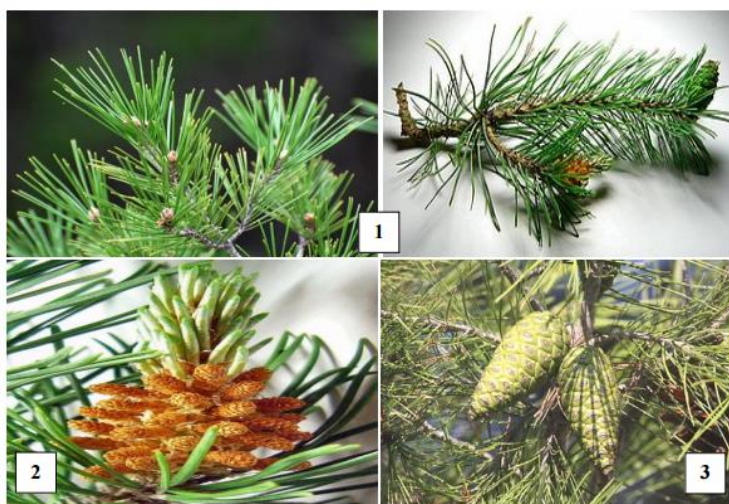
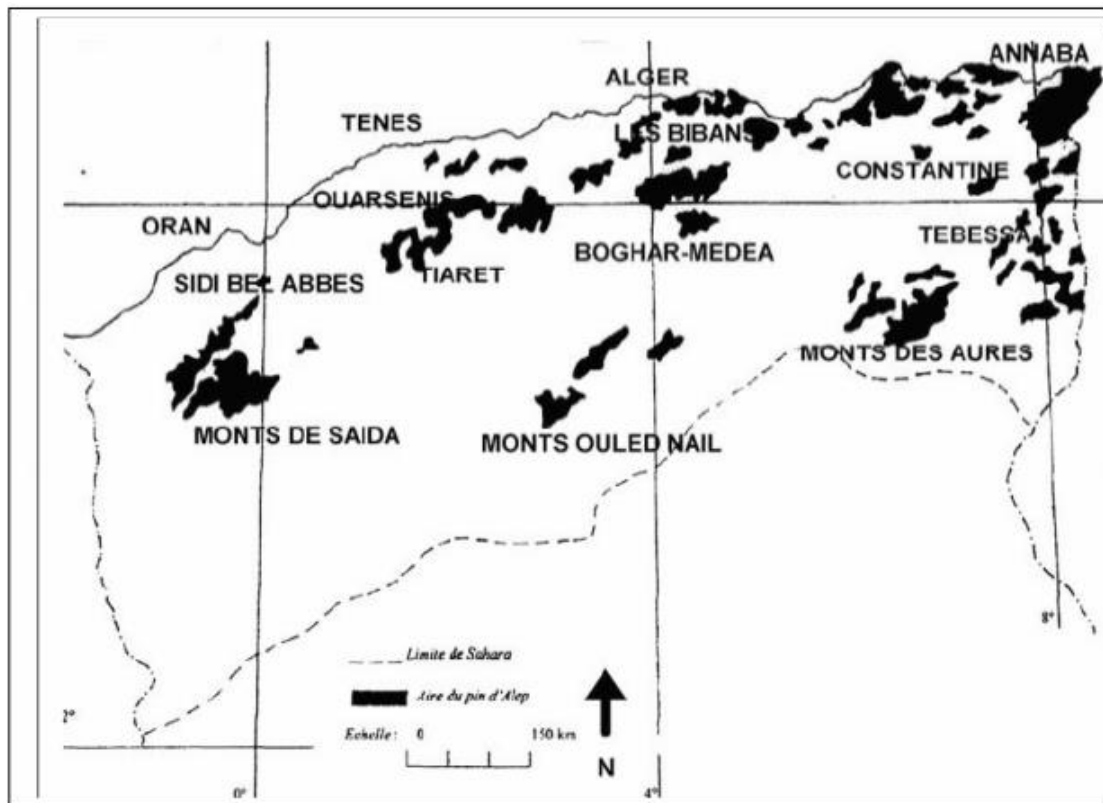


Figure 21 : Aiguilles (1) et pièces reproductrices du pin d'Alep (2 et 3)
(LADJAL ,2012)

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

2.2.2. Répartition du pin d'Alep en Algérie :

Schonenberger in Kadik (1987) notait que le pin d'Alep est une essence climacique des régions semi-arides. En Algérie (figure 22), il occupe le premier rang et constitue 35 % de la surface boisée. A l'est, on le trouve dans la région de Tébessa, les plateaux constantinois et les Aurès. Dans la région d'Alger, il constitue des peuplements assez importants de l'ouest à l'est. On peut citer les forêts de Médéa. A l'ouest, il marque bien sa présence à Bel Abbès, à Saida et dans l'Ouarsenis. Le pin d'Alep colonise même l'atlas saharien et il forme dans la région de Djelfa de beaux peuplements dans les Monts des Ouled-Nail.



(Source Bentouati, 2006)

Figure 22 : Aire de répartition du pin d'Alep en Algérie (Bentouati, 2006).

2.2.3. Composition chimique des aiguilles du pin d'Alep

L'analyse moyenne des graines a montré la composition suivante (en pourcentage du poids sec) : protéines 22,7%; huile 43,3%; cendres 8,3% et les hydrates de carbone totaux 25,7%. Le potassium, magnésium et calcium étaient les minéraux dominants, présents dans les graines et atteignent ensemble les 1%. Les acides oléique et linoléique étaient les acides gras insaturés principaux (27,3 et 48,8%; respectivement),

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

alors que le principal acide gras saturé était l'acide palmitique (8,75%) (Cheikh Rouhou et *al.*, SD) .

De son côté, Laatsh (in Temagoult, 2005), en étudiant la composition chimique des aiguilles du pin d'Alep a constaté l'ordre décroissant en éléments inorganiques suivant en fonction de la quantité : $N > K > Ca > Mg > P$.

3. Méthodologie de l'application des phytoessais

3.1. Matériel végétal :

Les échantillons foliaires de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) récoltés proviennent du Département des Biotechnologies de l'Université de Blida I situé dans la région de Soumâa. Les échantillons du Pin d'Alep *Pinus halepensis* récoltés proviennent du Parc national de Chréa. Le matériel végétal (tant les feuilles du lantanier que les aiguilles du pin d'Alep) a été étalé sur du papier blanc et mis à sécher à l'air libre, à l'abri de la lumière et de l'humidité et à la température ambiante du laboratoire. Les feuilles ont été par la suite réduites en poudre à l'aide d'un broyeur (mixeur a café)

3.2. Matériel biologique :

Pour cette étude, nous avons utilisé des individus de *Tribolium castaneum* (stade adulte) récupérés d'un élevage de masse au laboratoire de zoologie à l'intérieur de bocaux en verre d'une contenance de 1 litre et contenant de la farine de blé tendre (croissance la plus rapide à 34°C)

3.3. Autres matériels utilisés

Au laboratoire, nous avons utilisé le matériel suivant : Agitateur magnétique chauffant, Ampoule de coulée, Balance analytique, Balance portable, Boîtes de pétrie, Bécher, Flacon en verre, Fiole Erlenmeyer, Fiole jaugée, Éprouvette graduée, Entonnoir, l'eau distillée, Micropipette, moustiquaires, Papier filtre, Pipette jaugée, Pipette Pasteur en verre, Pissette, Poire en caoutchouc pour pipette, pinceau, Pulvérisateur, Spatule cuillère, Réfrigérateur, Rotavapeur.

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

3.4. Préparation des extraits aqueux :

3.4.1. Extrait aqueux par agitation :

Cette méthode d'extraction consiste à laisser macérer cent grammes de la poudre préparée des parties foliaires de chaque plante dans 1000 ml d'eau distillée pendant 72h dans des flacons hermétiques, sous agitation magnétique à la température ambiante du laboratoire (In DJELLOUT, 2009). Après filtration à l'aide de deux couches de tissu de tulle, le filtrat est filtré encore une fois à l'aide d'un papier filtre (AHMADI et *al*, 2010) et récupéré dans une bouteille recouverte par un papier aluminium conservée dans un endroit froid Cette solution a été ensuite diluée à la demi (1/2) et au quart de dose (1/4) pour nos essais.

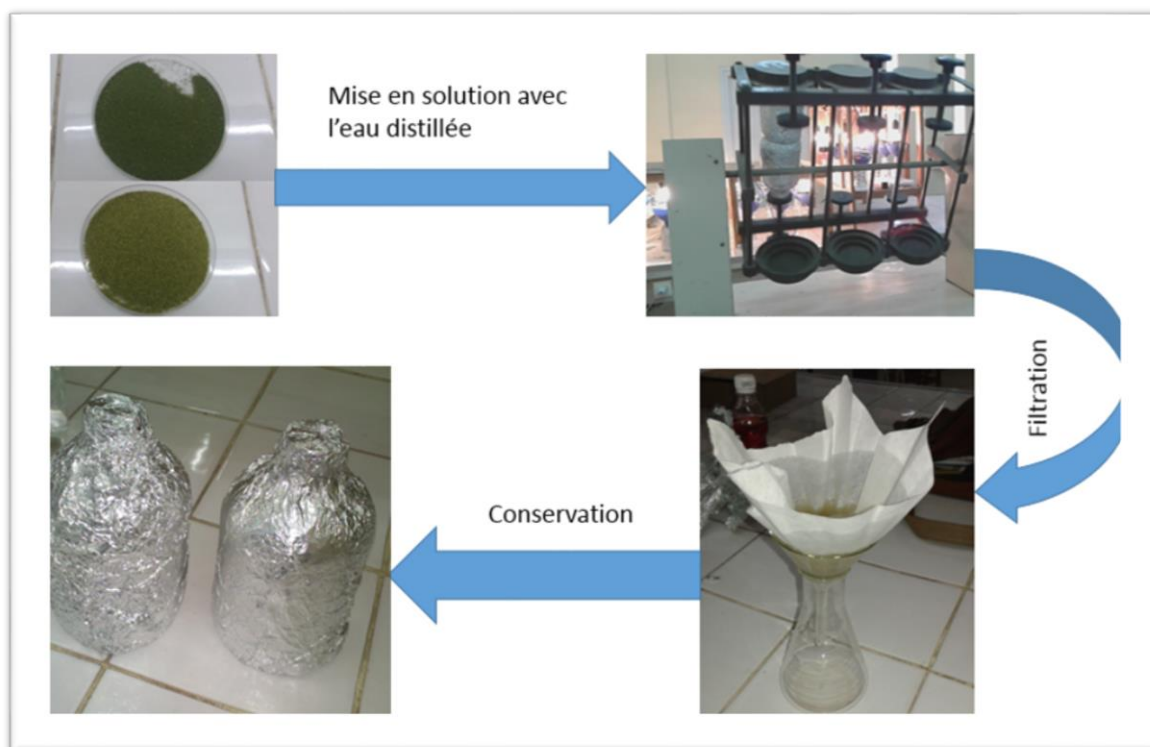


Figure 23 : Les différentes étapes pour la préparation de l'extrait Aqueux des parties foliaires de *L. camara* et *P. halepensis* (Originale).

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

3.4.2. Extraits phénoliques :

La procédure d'extraction des polyphénols des deux plantes a nécessité trois étapes : la macération, la pigmentation et la purification.

3.4.2.1. La macération :

Nous avons choisi une quantité de 8g de poudre végétale. Cette masse a été macérée dans 160 ml de méthanol à 96% pendant 24 heures à une température de 40°C, avec agitation à l'obscurité à la vitesse de 3 tours /seconde.

L'extrait obtenu est filtré une première fois avec un papier filtre pour la préparation de café, macéré une deuxième fois selon le même procédé, puis filtré une deuxième fois à l'aide d'un papier filtre de 10µm de diamètre après réfrigération pendant 48heures. (Benraous, 2006)

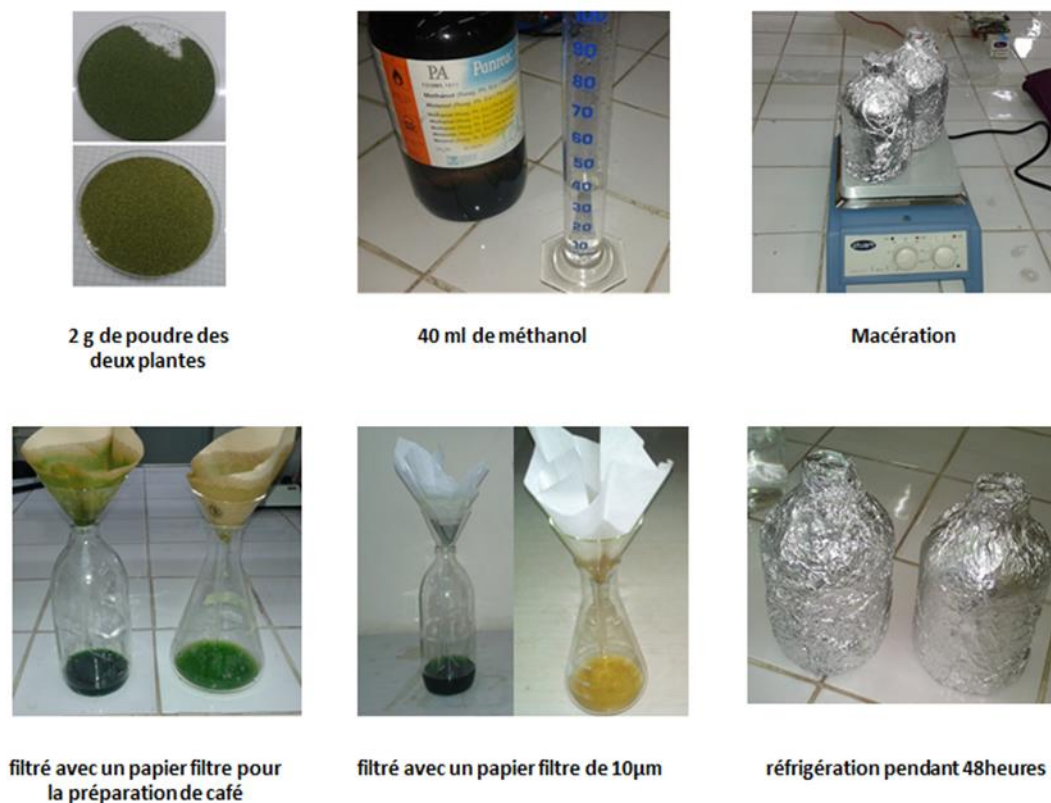


Figure 24 : Les différentes étapes pour la préparation de la macération des deux plantes (Originale)

3.4.2.2. La pigmentation et purification :

Les extraits alcooliques sont évaporés sous vide dans un Rotavapeur à une température de 40° c (figure 25)

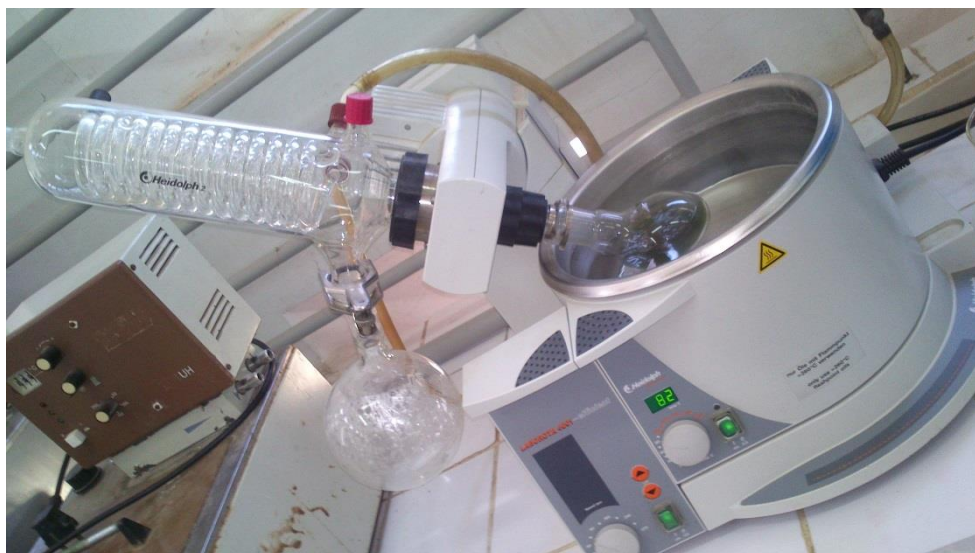


Figure 25 : Séparation du méthanol des phytoextraits (Originale).

La phase aqueuse de chaque extrait est lavée avec un demi-volume d'hexane dans une ampoule à décanter afin d'éliminer toutes traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc...). La phase aqueuse ainsi obtenue est ensuite lavée avec un volume d'acétate d'éthyle. L'addition d'un mélange de deux solutions aqueuses (4 m): sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 20% (m/v) et acide orthophosphorique H_3PO_4 2% (m/v) facilite le passage des composés phénoliques de la phase aqueuse vers le solvant « l'acétate d'éthyle ».

La phase organique obtenue est séchée sur sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4 pour éliminer toutes traces d'eau. Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite à 40°C. Les extraits phénoliques obtenus sont pesés pour calculer le rendement de chaque plante utilisée.

Le résidu est repris dans 1 ml de méthanol pur et conservé à -10°C pour avoir un extrait phénolique purifié (Benarous, 2006).

CHAPITRE II : Matériels et méthodes



(1) Phase organique, (2) Phase aqueuse

Figure 26 : La phase organique et la phase aqueuse des phytoextraits (Originale)

3.4.3 Dosage des polyphénols

3.4.3.1. Réactifs utilisés :

Nous avons utilisé :

- Un polyphénol témoin : l'acide gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu aqueux.
- Le réactif de Folin-Ciocalteu
- Le Carbonate de sodium

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le Protocole appliqué par Miliauskas et al (2004).

1 ml de l'extrait méthanoïque de la plante est mélangé avec 5 ml de folin ciocalteu (2M) dilué 10 fois et 4ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 75g/l. L'absorbance est mesurée à 765 nm, après incubation pendant 1 heure à température ambiante. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique (figure 27)

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

3.4.4. Préparation des doses testées

Une solution de concentration égale à 100g/l a été préparée dans de l'eau distillée avec l'extrait sec de feuilles. Cette solution a été ensuite diluée en 1/2 et 1/4 de doses pour nos essais. Les solutions sont stockés à 4°C jusqu'à l'utilisation.

- Dose = Solution mère = 100g/1000ml.
- 1/2 Dose = 500 ml Solution mère+ 500 ml Eau distillé.
- 1/4 Dose = 250 ml Solution mère + 750 ml Eau distillé.
- Nous avons utilisé l'eau distillée comme témoin

3.4.5. Traitements

Nous avons utilisé les trois doses choisies (pure, 1/2 dose, 1/4 dose) avec trois répétitions réalisées pour chaque dose, de même que pour le témoin. Les solutions de traitements ont été pulvérisées soit sur un morceau de papier filtre pour l'étude de l'effet par contact. Tous les essais ont été réalisés dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre et de 1 cm de hauteur dans lesquelles on dispose 20 individus de *T. castaneum* puis on recouvre d'une fine moustiquaire pour éviter la fuite des insectes. Le nombre d'individus morts et survivants sont comptabilisés après 3 jours d'exposition après application des traitements puis après 7 jours. Nous avons pris en considération l'abondance des individus morts (après 24h, 48h 72h et 7 jours respectivement ainsi que les pourcentages de populations résiduelles pour évaluer les toxicités respectives.

Des morceaux de cotons sont pulvérisés par les traitements polyphénoliques avec concentration donnée. (Témoin pulvérisé avec l'eau distillé). Les cotons sont placés dans des petits becs de jus en verre à condition qu'il n'y a aucun contact avec les insectes, Chaque boîte contient 20 individus de l'insecte étudié.

3.5. Exploitation des données

3.5.1. Evaluation des mortalités et des toxicités des solutions aqueuses et phénoliques

Les abondances brutes comptabilisées après l'application des phytoextraits ont été enregistrées dans le logiciel Excel, en relation avec la nature du phytoextrait et les

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

différentes doses. Nous avons calculé les mortalités moyennes et représenté les variations temporelles dans chaque cas.

L'évaluation de l'effet toxique des traitements biologiques a été estimée par la comparaison des abondances des populations résiduelles (P.R.) exprimées en pourcentages de *T. castaneum*, selon le test de Dunnett. Le pourcentage des populations résiduelles est exprimé par le rapport du nombre de formes vivantes dans les lots traités sur le nombre de formes vivantes dans les lots témoins.

Lorsque le pourcentage des populations résiduelles est inférieur à 30%, la molécule bioactive est toxique, si ce pourcentage est par contre compris entre 30% et 60%, la molécule est moyennement toxique, s'il est évalué à plus de 60%, l'effet toxique de la substance ou de la molécule est faible ou neutre. La significativité des résultats a été testée par une analyse de variance, lorsque le problème était de savoir si la moyenne des pourcentages des populations résiduelles de *T. castaneum* variait significativement selon les conditions. Dans les cas où plusieurs facteurs sont en jeu (temps post traitement, dose, nature du phytoextrait, mode de traitement), nous avons utilisé le modèle linéaire global de l'ANOVA (GLM), pour connaître explicitement l'effet d'un facteur indépendamment.

Nous avons exploité les différences des données des mortalités et des toxicités entre les deux extraits par une analyse en composantes principales.

3.5.2. Calculs des rendements en polyphénols des phytoextraits de *L. camara* et de *P. halepensis*.

Le rendement en polyphénols totaux a été calculé par l'équation suivante : **Rdt** = (**m** / **Ps**) × 100% avec **Rdt** exprimant le rendement en %, **m** : la masse de l'extrait végétal (g) et **Ps** la prise d'essai (poudre) (g).

CHAPITRE III :

Résultats et discussion

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Dans ce chapitre, sont présentés les résultats d'une part des rendements en polyphénols extraits des deux plantes aromatiques choisies et les résultats obtenus sur les deux effets comparés des traitements biologiques par inhalation et par contact d'autre part.

1. Rendements en polyphénols :

Tableau 2 : Rendements en polyphénols de *Lantana camara* et *Pinus halepensis*

Plante	Nombre d'échantillons	Rendement %
<i>Pinus halepensis</i>	1	15.62%
<i>Lantana camara</i>	1	17.63%

Le rendement des feuilles de *Lantana camara* (17.63%) est supérieur à celui des aiguilles de *Pinus halepensis* (15.62%).

2. Dosage des phénols totaux :

La spectrophotométrie a permis de quantifier le taux des polyphénols dans l'extrait méthanoïque des deux plantes. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations. La teneur en phénols totaux est rapportée en mg équivalent acide gallique/g d'extrait de plante. Sont représentées par 0.27 mgEAG/g et 0.13 mgEAG/g pour *L. camara* et *P. halepensis* respectivement.

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c \cdot v / m$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

v : volume de l'extrait (ml).

m : masse de l'extrait pur de plante (g).

CHAPITRE III : Résultats et discussion

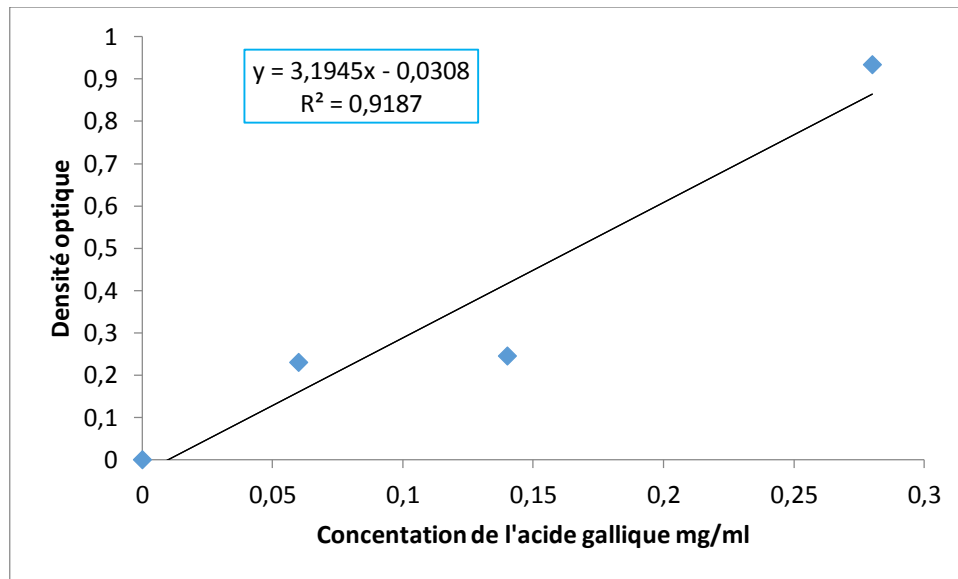


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

3. Mortalités moyennes comparées des différents traitements biologiques

Les mortalités moyennes des individus de *T. castaneum* ont été calculées à partir des trois répétitions réalisées pour chaque dose testée en relation avec la nature des solutions de traitement utilisées et le mode de traitement.

3.1. Mortalités moyennes globales sous l'effet des extraits aqueux des deux plantes testées

Les figures 28 et 29 ainsi que le tableau 3 montrent d'une part que les mortalités les plus importantes sont obtenues avec l'extrait aqueux de *L. camara* à la dose pure ainsi qu'à la $\frac{1}{2}$ dose en comparaison avec les mortalités enregistrées avec les extraits de *P. halepensis* (**figure 29**). De plus, on constate un effet stable à la dose pure à partir de 72h pour les substances aqueuses de *P. halepensis* mais qui diminue au même temps en ce qui concerne *L. camara*. En comparaison avec les séries témoins où les mortalités sont nulles, l'effet observé avec le $\frac{1}{4}$ de dose sur la mortalité du tribolium semble progressif de 24h à 7 jours après l'application des traitements (**figure 29**)

CHAPITRE III : Résultats et discussion

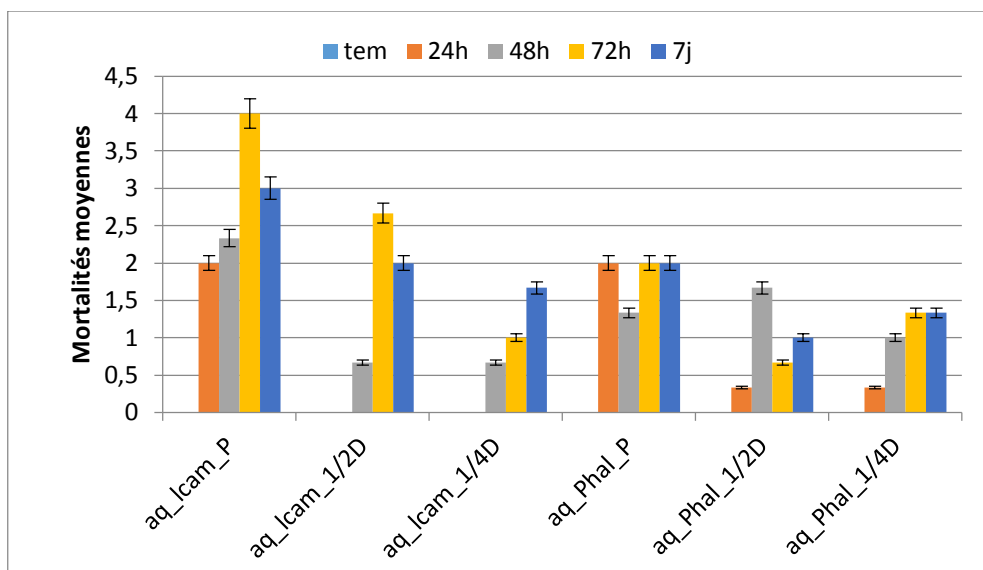


Figure 28 : Variations comparées des mortalités moyennes globales de *Tribolium castaneum*.sous l'effet des extraits aqueux de *Lantana Camara* et de *Pinus halepensis*.

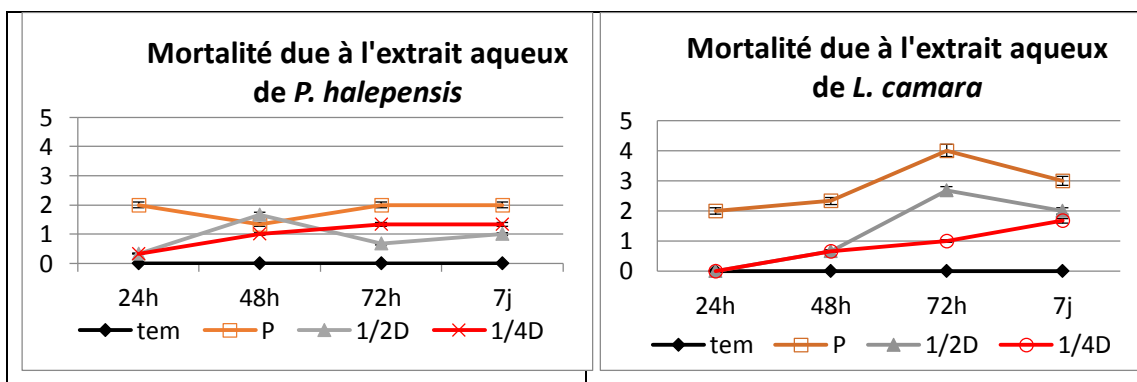


Figure 29 : Evolution temporelle des mortalités de *Tribolium castaneum*.traité par les solutions aqueuses de chaque plante.

D'autre part, on peut remarquer que les mortalités maximales sont observées plus précocement pour l'extrait de *P. halepensis* avec un effet de choc à 24 h avec la dose pure puis à 48h avec la 1/2 dose en comparaison avec les mortalités obtenues avec l'extrait aqueux de *L. camara* enregistrées avec des valeurs maximales à 72 h à la dose pure et 7 jours sous l'effet du 1/4 de dose (**tableau 3**).

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Tableau 3 : Mortalités maximales temporelles de *Triboilum castaneum*.traités par l'extrait aqueux de *Lantana Camara* et *Pinus halepensis* en fonction des doses testées.

	Extrait aqueux <i>L. camara</i>			Extrait aqueux <i>P. halepensis</i>		
Traitement	Dose pure	½ dose	1/4 dose	Dose pure	½ dose	1/4 dose
Mortalité maximale	72h	72h	7j	24h	48h	72h à 7j

3.2. Mortalités moyennes globales sous l'effet des extraits phénoliques des deux plantes testées

Les mortalités comparées dues aux effets des extraits phénoliques des deux plantes sont consignées dans les figures 30 et 31 ainsi que dans le tableau 4

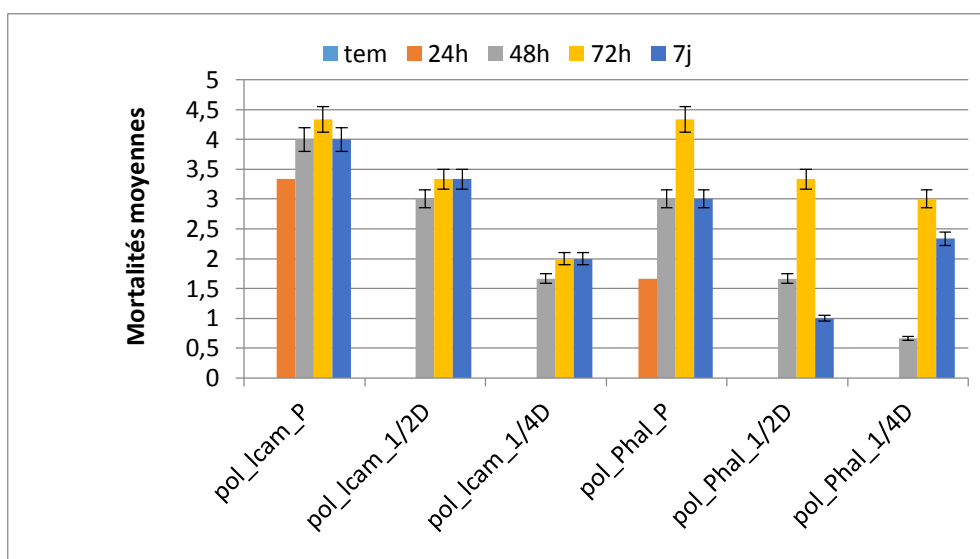


Figure 30 : Variations comparées des mortalités moyennes globales de *Triboilum castaneum*.sous l'effet des extraits phénoliques de *Lantana Camara* et de *Pinus halepensis*.

Les mortalités les plus importantes sont enregistrées sur les individus traités avec les solutions phénoliques de *L. camara* et *P. halepensis* avec la dose pure (**figure 31**) et cela quel que soit le temps d'exposition.

Le nombre d'individus morts augmente progressivement jusqu'à 72 heures puis décroît au 7 eme jour, sous l'effet de l'extrait phénolique de *L.camara*. L'effet de

CHAPITRE III : Résultats et discussion

l'extrait phénolique des aiguilles du pin d'alep se stabilise à partir de 48 heures après application (**figure 31**).

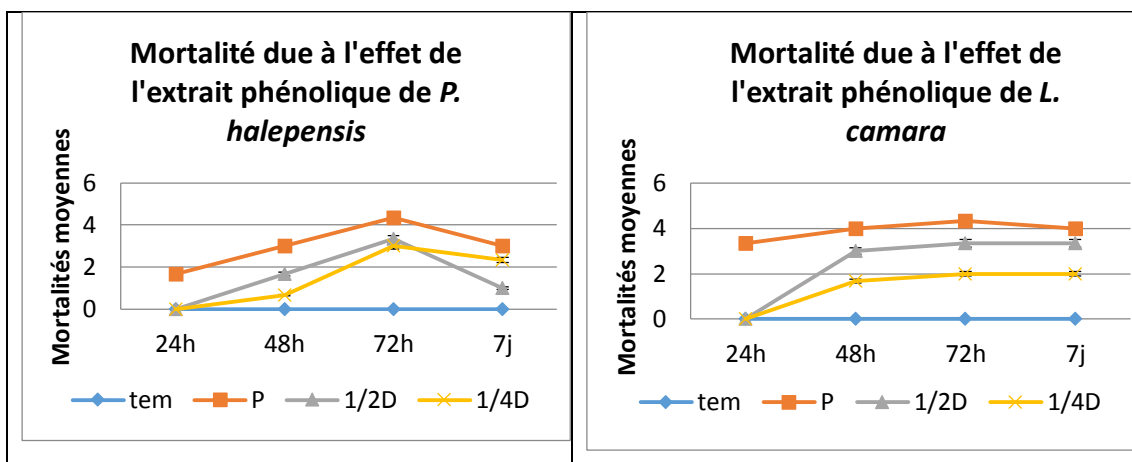


Figure 31 : Evolution temporelle des mortalités de *Tribolium castaneum*.traité par les solutions phénoliques de chaque plante.

Le nombre de mortalités chez *T. castaneum* devient maximal seulement 3 jours après l'application des traitements biologiques aussi bien pour l'extrait phénolique du lantaniier que pour celui du pin d'alep (**tableau 4**).

Tableau 4 : Mortalités maximales temporelles de *Tribolium castaneum*.traités par l'extrait polyphénolique de *Lantana Camara* et *Pinus halepensis* en fonction des doses testées.

traitement	Extrait phénolique <i>L. camara</i>			Extrait phénolique <i>P. halepensis</i>		
	Dose pure	1/2 dose	1/4 dose	Dose pure	1/2 dose	1/4 dose
Mortalité maximale	72h	72h à 7j	72 à 7j	72h	72h	72h

3.3. Analyse des mortalités comparées de *T. castaneum* sous l'effet des extraits aqueux et phénoliques des deux plantes testées.

Nous avons analysé l'effet de chaque facteur (dose, traitement, temps après application et mode de l'application biologique) pour chaque plante étudiée sur les mortalités de *T. castaneum* (**figure 32 et tableau 5**)

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Tableau 5 : Résultats de la significativité des différences observées des facteurs sur les mortalités de *Triboilum castaneum*. (probabilités associées et F ratios)

Source	somme des carrés	ddl	carrés moyens	F-ratio	P
Plante	9.000	1	9.000	7.269	0.008
Traitement	25.000	1	25.000	20.191	0.000
Dose	82.348	3	27.449	22.170	0.000
Temps	65.883	3	21.961	17.737	0.000
Erreur	167.152	135	1.238		

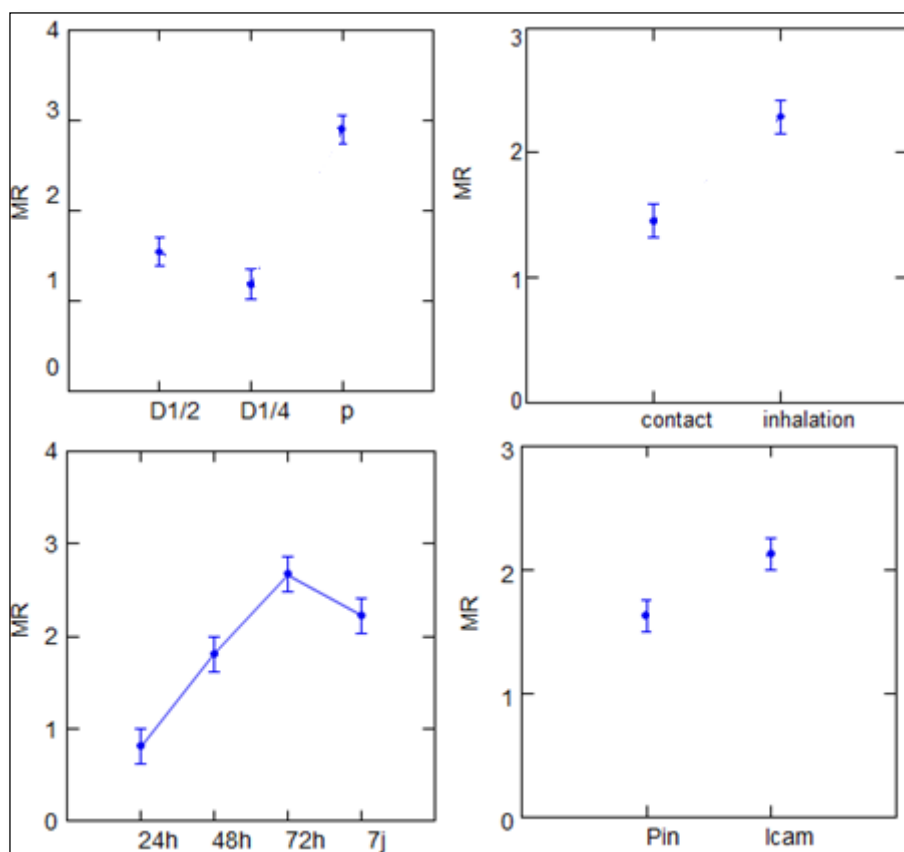


Figure 32 : Résultats de l'analyse de la variance (Modèle linéaire global) des effets comparés des doses d'application des extraits respectifs des deux plantes sur les mortalités de *Triboilum castaneum*. en fonction du temps d'exposition aux traitements biologiques.

CHAPITRE III : Résultats et discussion

L'action des traitements (extrait aqueux et phénolique) aux différentes doses testées est très hautement significative ($p=0.000$; $p < 1\%$), plus la dose est importante plus il ya un effet progressif sur les mortalités.

L'action de l'extrait aqueux par contact agit d'une manière différente par rapport à l'extrait phénolique par inhalation sur *Tribolium castaneum*. D'après les résultats de l'analyse de la variance, on constate que la différence entre les deux traitements est très hautement significative ($p= 0.000$). Donc, le mode de traitement par inhalation est plus efficace que le mode de traitement par contact. L'action des deux traitements (l'extrait aqueux et phénolique) augmente dans le temps, ($p= 0.000$). L'action de la plante *Lantana camara* est différente de celle de la plante *Pinus halepensis* La différence entre les deux plantes est hautement significative ($p=0.008$; $p \leq 0,01$).

4. Toxicités moyennes comparées des différents traitements biologiques

4.1. Toxicités moyennes globales sous l'effet des extraits aqueux des deux plantes testées

Nous avons analysé l'effet de chaque facteur (dose, traitement, temps après application et mode de l'application biologique) pour chaque plante étudiée sur les pourcentages des populations résiduelles de *Triboilum castaneum*. (figure 33)

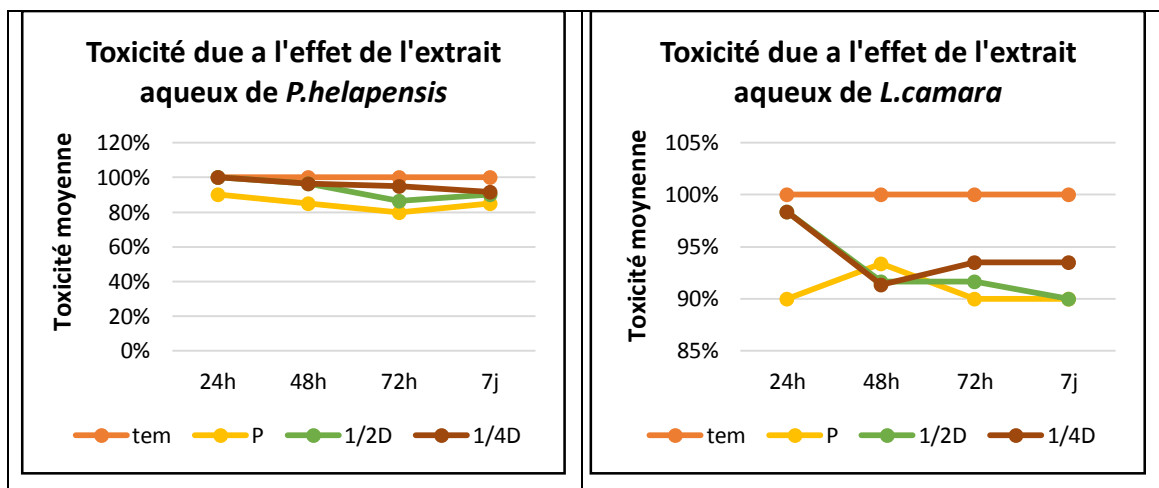


Figure 33 : Variation temporelle des toxicités des solutions aqueuses des deux plantes testées sur *Triboilum castaneum*.

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Quel que soit la dose utilisée des extraits aqueux des deux plantes *L. camara* et *P. halepensis*, nous avons constaté des pourcentages élevés des populations de *T. castaneum* survivantes aux traitements biologiques appliqués (figure 33). les valeurs de ces pourcentages enregistrés sont nettement supérieures à 60%, ce qui met en évidence d'après nos résultats obtenus une toxicité neutre des produits utilisés sur ce ravageur.

4.2. Toxicités moyennes globales sous l'effet des extraits phénoliques des deux plantes testées

De même que pour les résultats obtenus avec les toxicités constatées avec les extraits aqueux des deux plantes, on peut dire que les extraits phénoliques n'ont pas été efficaces sur les populations du ravageur quelque soit la dose utilisée et le temps d'exposition (figure 34). Les valeurs des pourcentages des survivants après l'application des traitements biologiques restent comprises entre 80% et 90% au 7eme jour (figure 34).

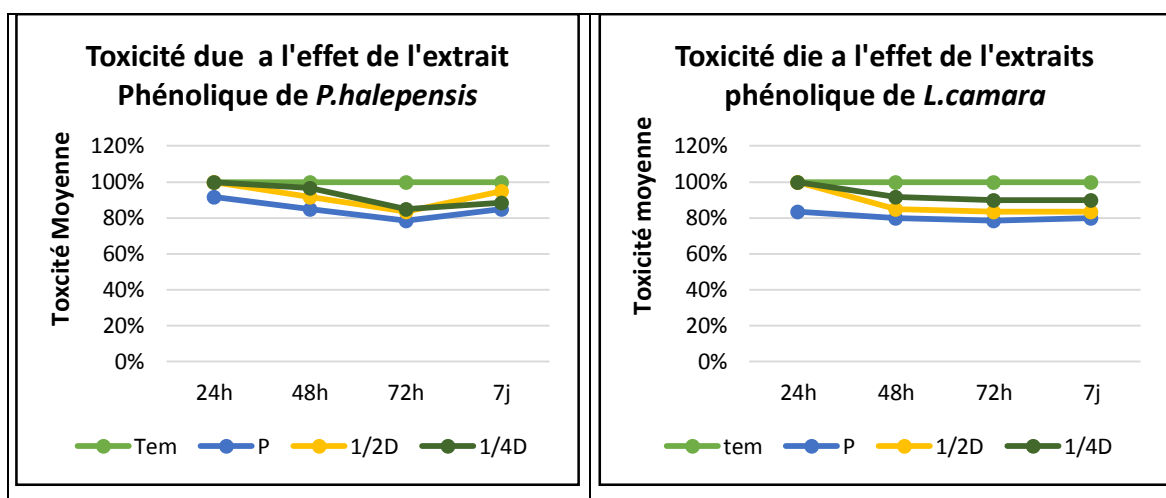


Figure 34 : Variation temporelle des toxicités des solutions phénoliques extraites des deux plantes testées sur *Tribolium castaneum*.

4.3. Analyse des toxicités comparées des extraits aqueux et phénoliques des deux plantes testées sur *T. castaneum*.

L'effet de facteur dose sur les populations résiduelles du *Tribolium castneum* a engendré une toxicité neutre, on constate une déférence non significative entre les trois doses. $p=0.208$; $p \geq 0,05$).

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Tableau 6 : Résultats de la significativité des différences observées des facteurs sur les toxicités des deux types d'extraits végétaux sur *Tribolium castaneum*. (probabilités associées et F ratios).

Source	Somme des carrés	ddl	carrés moyens	F-ratio	P
Plante	15.503	1	15.503	0.114	0.738
Traitement	0.910	1	0.910	0.007	0.935
Dose	648.930	3	216.310	1.587	0.208
Temps	958.667	3	319.556	2.345	0.088
Erreur	5315.612	39	136.298		

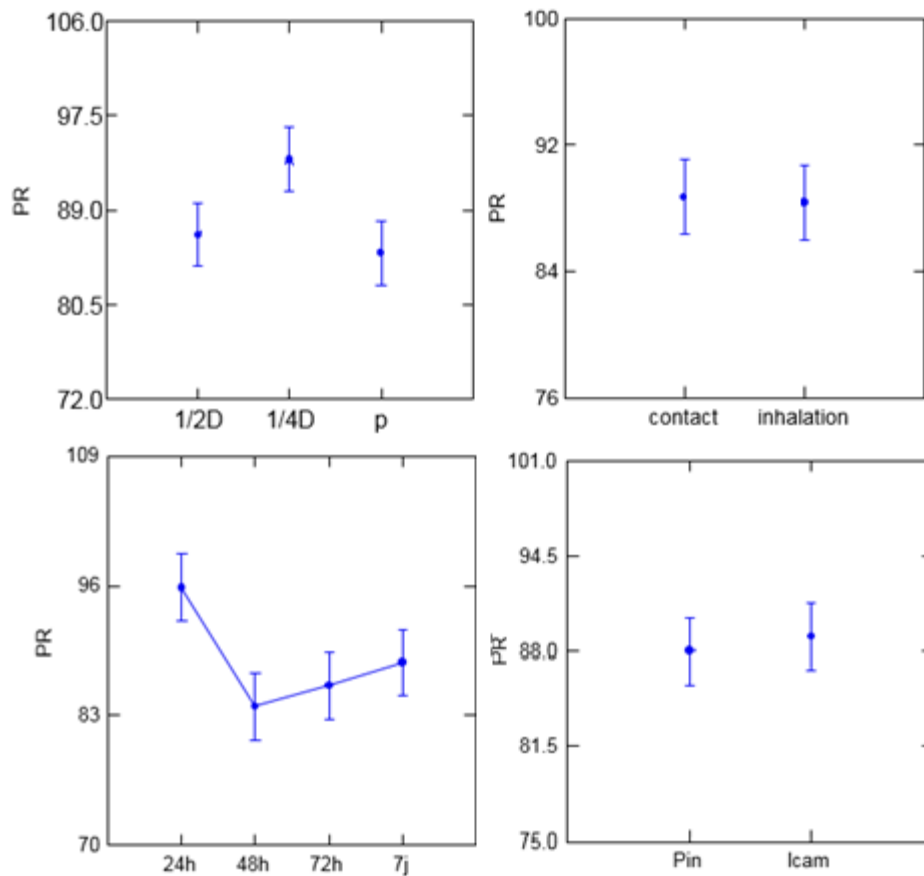


Figure 35 : Résultats de l'analyse de la variance (Modèle linéaire global) des toxicités comparées des deux phytoextraits sous l'effet des doses d'application et du type de traitement en fonction du temps d'exposition.

La dose pure a donné une meilleure réduction des populations résiduelle. L'effet de facteur temps sur les populations résiduelles du *Tribolium castaneum* a causé une

CHAPITRE III : Résultats et discussion

toxicité neutre, une différence non significative entre les temps d'exposition a été remarquée. $p=0.088$; $p \geq 0,05$).

L'effet de facteur plante sur les populations résiduelles du *tribolium castaneum* a engendré une toxicité neutre. Une différence non significative entre la plante de lantanier et le pin d'Alep a été remarqué $p=0.738$; $p \geq 0,05$).

L'effet du facteur traitement a causé une toxicité neutre, une différence non significative entre les modes de traitement (contact et par inhalation) a été constatée $p=0.935$; $p \geq 0,05$).

5. Analyse globale du potentiel insecticide des deux phytoextraits sur *T. castaneum*

Les données obtenues sur les mortalités et les pourcentages des populations résiduelles ont été analysés par des ACP (analyses en composantes principales) pour évaluer le potentiel biocide chaque traitement biologique utilisé. Ces analyses sont satisfaisantes dans la mesure où un pourcentage de contribution des informations supérieur à 50% est rapporté sur les deux axes (axe 1 et axe 2) de l'ACP. Les corrélations ($> 50\%$) ont été utilisées pour définir les groupes de traitements corrélés aux différents temps d'exposition (**figure 36 et figure 37**).

5.1 Analyse globale des effets sur les mortalités

Le premier groupe regroupe les mortalités de *Tribolium castaneum* traité par l'extrait phénolique de *Lantana Camara* à la dose pure, qui correspond aux forte moyenne de mortalité, Ce groupe est corrélé positivement avec vecteur de temps (24h)

Le deuxième groupe comprend le nombre de mortalité de *Tribolium castaneum* traité par l'extraits aqueux de *Lantana camara* à la dose pure et l'extrait phénolique de *Lantana Camara* à la dose pure et celui de la demi dose.

CHAPITRE III : Résultats et discussion

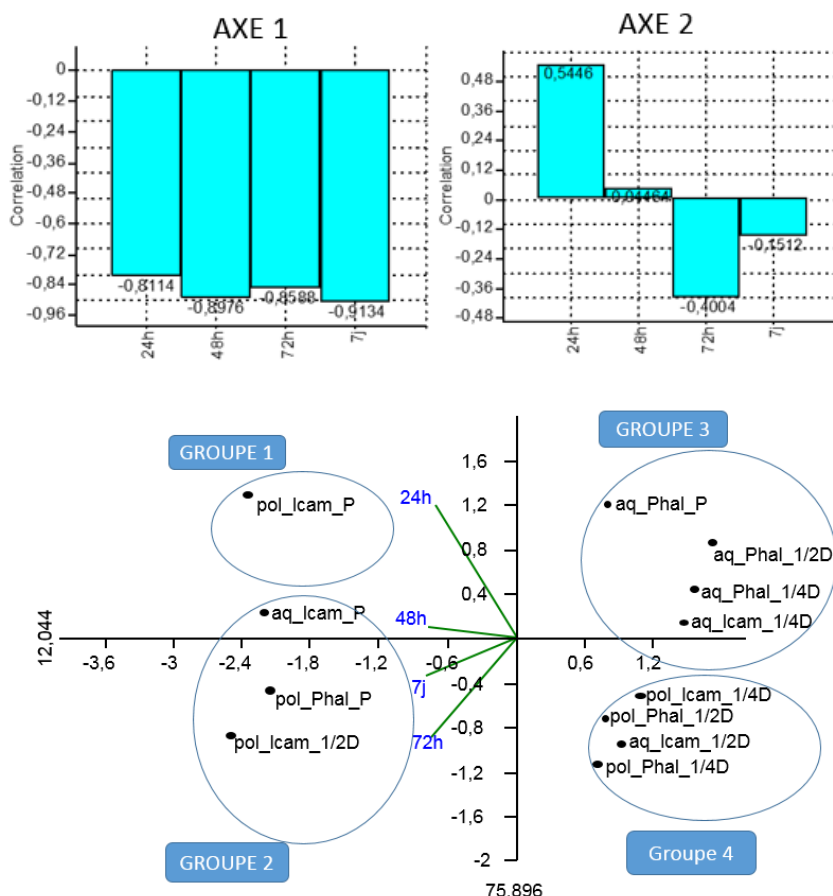


Figure 36 : Analyse en composantes principales (ACP) des mortalités de *Tribolium castaneum* selon les traitements biologiques considérés.

Ce groupe est corrélé positivement avec les traitements et les vecteurs de temps qui de 48 heures, 72 heures et le 7^{ème} jour.

Le troisième groupe est représenté par le nombre de mortalités du ravageur traité par l'extrait aqueux de *Pinus halepensis* à la dose pure, la demi dose et le quart de dose ainsi que le traitement avec l'extraits aqueux de lantana avec le quart de dose, ce groupe est corrélé positivement avec les vecteurs de temps (24 heures et 48 heures)

Le quatrième groupe comprend le nombre de mortalités de *Tribolium castaneum* traité par l'extraits aqueux de *Lantana camara* celui de la 1/2 dose et l'extraits phénolique de *Lantana camara* du quart de dose et par le traitement phénolique de *Pinus halepensis* Celui de demi dose du quart de dose.

Ce groupe est corrélé positivement avec les vecteurs de temps (72 heures et le 7^{ème} jour).

CHAPITRE III : Résultats et discussion

5.2. Analyse globale des effets des facteurs sur les toxicités

Le premier groupe est constitué des populations résiduelles résultant du traitement avec les extraits phénoliques et aqueux de *lantana camara* et *pinus halepensis* avec la dose pure et la ½ dose, il comprend un faible pourcentage de populations résiduelles.

Le deuxième groupe comprend des populations survivantes à l'extrait aqueux de *Pinus halepensis*, ce groupe est corrélé positivement avec le temps (72h). Il est caractérisé par un pourcentage de population résiduelle très élevé.

Le troisième groupe est constitué des polyphénols et des extraits aqueux de *Lantana camara*, et *Pinus halepensis*, avec la ½ dose et la 1/4dose .il est corrélé positivement avec le temps 24h et 48h et 7 jours.

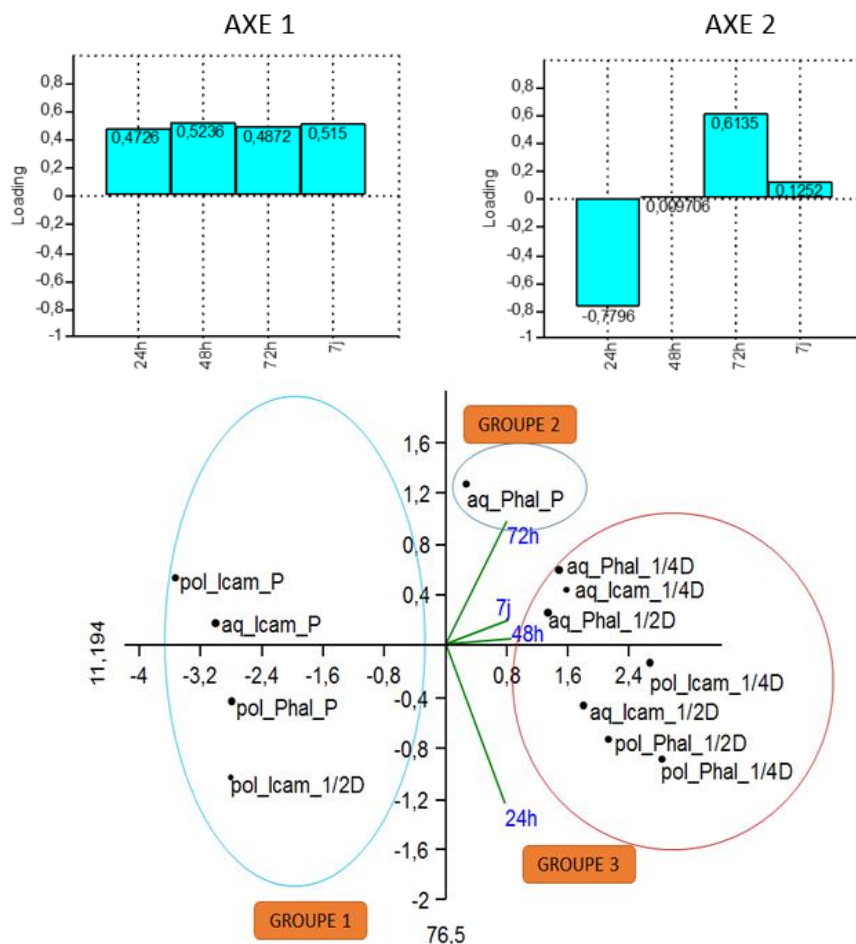


Figure 37 : Analyse en composantes principales (ACP) de pourcentage de population résiduelle de *Tibolium castaneum* dans les deux traitements considérés.

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Discussion générale

Les extraits aqueux des plantes ont un intérêt croissant très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives d'après Yakhlef, (2010). Ces produits font l'objet des études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides.

Dans ce travail, nous avons évalué l'effet biocide de deux phytoextraits : l'extrait phénolique et l'extrait aqueux de deux plantes aromatiques *Lantana camara* et *Pinus halepensis* selon deux modes d'applications par inhalation et par contact respectivement sur un ravageur des denrées stockées *Tribolium castaneum*.

D'après notre étude, les résultats ont montré que les effets des traitements par contact et par inhalation variant en fonction de la plante, du mode de traitement, de la dose utilisée, et du temps d'exposition (de 24h à 7 jours).

Lantana camara considérée comme agressive et comme l'un de 10 adventices les plus nuisibles dans le monde (Ghisalberti, 2000). Des résultats montrent que les aiguilles de pinus halepensis contiennent de substances antibactériennes efficaces. (Kadari, 2012).

Nous avons mis en évidence une activité biocide mais non toxique sur *T. castaneum*. L'effet des traitements par inhalation et par contact selon la nature des phytoextraits de *Lantana camara* et de *Pinus halepensis* et les doses testées (pure, ½ dose et ¼ de dose) a engendré une toxicité neutre sur *Tribolium castaneum*.

L'activité biocide si elle existe, s'est traduite par un nombre faible de mortalités observées, ce qui pourrait être dû à un phénomène de résistance manifesté par les insectes. Les mortalités dépendent de la nature de la plante. Le lantanier a présenté une meilleure efficacité par rapport au pin d'alep.

La toxicité est neutre pour les deux traitements, ce qui pourrait supposer que les molécules bioactives contenues dans les deux types d'extraits exprimeraient un effet tardif au-delà du temps d'exposition pris en considération dans notre étude.

CHAPITRE III : Résultats et discussion

Fethouane (2012) rapporte que quel que soit le temps d'exposition de 24h à 72h, les doses de 2g/100ml et 1g/100ml des polyphénols du lantanier ont manifesté une toxicité très élevée sur les populations de bruches de niébé *Callobruchus quadrimaculatus* Fab. (Coleoptera, Chrysomelidae).

Les applications ont été effectuées sur les grains. Les émergences des bruches pourraient être affectées soit au moment de la sortie des insectes des grains soit quand ils sont exposés directement après leur sortie. C'est surtout la dose de 1.5g/100ml des polyphénols foliaires du lantanier qui a manifesté un effet très toxique sur les bruches durant le même intervalle temporel, selon le même auteur.

Selon la littérature citée par Bouzar Essaïdi (2012), *Lantana camara* a été mentionné comme ayant une activité insecticide contre les organismes nuisibles des denrées stockées, contre les ravageurs des cultures maraîchères, les larves de moustiques. Des extraits des fleurs de *L. camara* ont montré un effet répulsif sur les moustiques du genre *Aedes*. De même que les extraits des feuilles ont montré une activité insecticide et allélopathique alors que l'huile essentielle de cette plante présente une activité qui ressemble à l'activité de l'hormone juvénile. De plus, Les lantadènes présentes dans toutes les variétés de *L. camara*, seraient responsables de presque toutes les activités biologiques. Les C- glycosyls- flavones contenus dans la Verbenaceae *L. camara* seraient antibactériens.

Les composés polyphénoliques, produits du métabolisme secondaire du règne végétal constituent un moyen de lutte contre les pathogènes et les compétiteurs, ils sont produits en fortes concentrations par la plante en réponse à leurs attaques (Hart, 1981, Woodward et Pearce, 1988). Il a été prouvé que ces biométabolites jouent un rôle indéniable dans la protection des plantes vis à vis de l'attaque des insectes et des microorganismes (Harborn et al., 1985 ; Daï et al., 1995) où la résistance des plantes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Bahorun, 1997).

Les polyphénols végétaux, souvent présents en grande quantité dans les plantes consommées par les herbivores, limitent leur appétence et digestibilité et sont donc. comme des facteurs antinutritionnels.

CHAPITRE III : Résultats et discussion

La toxicité des composés phénoliques est couramment démontrée vis-à-vis de nombreux microorganismes avec selon les cas, des effets biostatiques ou biocides (Diniz et *al.*, 2003 ; Sallé et *al.*, 2005). Ils traduisent notamment une action inhibitrice de l'activité des enzymes hydrolytiques parasitaires telles que les pectinases cellulases, protéases ainsi que la biosynthèse de toxines parasitaires (El Modaffar et *al.*, 2000). Les produits d'oxydation des phénols jouent par ailleurs un rôle crucial dans l'inactivation des enzymes lytiques produites par des microorganismes (Harborne, 1989). David et *al.*, (2000) signalent que la litière de l'aulne, plante riche en polyphénols s'est révélée être douée de propriétés toxiques importantes vis-à-vis des larves des moustiques *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* et *Aedes. albopictus*.

Les faibles mortalités et les toxicités neutres observées sur les populations du *T. castaneum* après application des bioproduits de *L. camara* et *P. halepensis* pourraient être dues à différents facteurs intrinsèques du matériel végétal utilisé lui-même ou bien à l'effet de facteurs externes associés aux conditions de développement de la plante elle-même.

Il est connu que les métabolites secondaires, leurs teneurs et leurs intensités changent en fonction du métabolisme de la plante et des tissus et cellules impliqués dans leur synthèse. La teneur en composés phénoliques change en fonction du stade de maturité des fruits. Ainsi, les caroténoïdes s'accumulent dans la pulpe des fruits au cours de la maturation. Les compositions en caroténoïdes peuvent être alors considérées comme des marqueurs de la variété, de l'origine géographique et des conditions culturales (Curk, 2008), ce qui serait intéressant pour la valorisation des variétés les plus performantes en matière de teneur en composés phénoliques plus efficaces.

Si les polyphénols des deux plantes testées (le pin d'alep et le lantanier) ne se sont pas montrés toxiques, il n'en demeure pas moins que la toxicité des composés phénoliques du pin d'alep est plus élevée que celle des extraits phénoliques des feuilles du lantanier.

Ainsi, Fadel et *al.*, (2011) ont prouvé que les extraits acétoaqueux des pulpes et des graines du caroubier (*Ceratonia Siliqua*) de deux localités différentes du sud ouest marocain (Izouika et Reggada), n'ont pas les mêmes effets. Les composés

CHAPITRE III : Résultats et discussion

phénoliques des extraits des pulpes, dont notamment l'acide gallique, l'acide syringique, l'acide *p*-coumarique, l'acide *m*-coumarique, l'acide benzoïque et l'Hydroxytyrosol sont plus riches, qualitativement et quantitativement, en composés phénoliques comparés à ceux de la graine.

La dégradation accélérée des composés phénoliques pourrait être une autre cause de leur chute et par conséquent de leur moindre efficacité. L'oxydation irréversible de certains polyphénols pourrait conduire à la formation des mélanines insolubles, ce qui diminuerait le pool des composés phénoliques (Brzozowska et Hanower, 1978).

D'autres travaux attestent du potentiel insecticide des composés phénoliques. Les composés phénoliques extraits du feuillage du néflier et du clémentinier pourraient constituer des insecticides de remplacement ce qui contribuerait à un complément à l'efficacité des polyphénols de l'olivier lui-même synthétisés durant la période d'apparition des boutons floraux et des jeunes pousses de l'olivier selon Sefiane Tsouri (2011). Les substances présentes dans les différents phyoextraits montrent une variabilité saisonnière de la toxicité sur les populations du psylle de l'olivier. Celle-ci atteint un maximum dans le temps au bout de 4 jours. Les extraits phénoliques du clémentinier semblent être plus efficaces et plus toxiques notamment avec les extraits foliaires obtenus et récoltés durant la période printanière, (Sefiane-Tsouri, 2011).

L'effet biocide des composés phénoliques a été également étudié par Dellil (2013) à partir de la menthe et l'oléastre contre l'aleurode des agrumes (*Dialeurodes citri* ashmed) avec une réduction de l'abondance populationnelle en particulier après 96h.

L'utilisation des extraits aqueux en tant que pesticide biologique dans notre expérimentation a été basé sur des résultats obtenus dans différents travaux. On peut mentionner les extraits de *Melia azadirach* .et d'*Azadirachta indica* qui ont affecté la fécondité et la mortalité de *Bemisia tabaci* (Nardo *et al.*, 1997 ; Vandramin, 2000). La poudre et les extraits de *Capsicum frutescens* (Solanaceae) ont montré un pouvoir répulsif contre *Callosobruchus maculatus* (Ofuya, 1986 ; Onu et Aliyu, 1995), *Sitophilus zeamais* Motsch et *Tribolium castaneum* (Morallo-Rejesus, 1987 ; Trematerre, Sciarretta, 2001). La toxicité des extraits des fruits du piment fort a aussi été notée chez *Sitophilus oryzae* (L.) et *Tribolium confusum* J. du Val (Williams, Mansingh, 1993 ; Gakuru, Foua, 1996).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Ce travail a porté sur l'étude de l'effet biocide et toxique des extraits phénoliques, des polyphénols et l'extrait aqueux de deux plantes le Lantanier *Lantana camara* et le pin d'Alep *Pinus halepensis* sur un ravageur des denrées stockées *Tribolium castaneum*.

Nous pouvons avancer cependant les conclusions suivantes :

- Les phytoextraits utilisés possèdent un effet insecticide sur le ravageur que ce soit par contact ou par inhalation. A cet effet, les plantes étudiées peuvent être candidates à leur utilisation en tant que pesticide biologique.

- Les résultats observés sur les faibles mortalités de l'insecte en fonction des doses administrés montrent que *T. castaneum* est résistant. Les résultats préliminaires ont mis en évidence de faibles mortalités dues aux phytoextraits phénoliques et aqueux des deux plantes testées que ce soit pour le lantanier que pour le pin d'Alep.

- Cependant, nous avons remarqué une certaine sensibilité du ravageur pour le mode d'application des solutions de traitement par inhalation par rapport au mode contact. Ainsi, les mortalités surviennent plus précocement avec les applications des extraits phénoliques du pin d'alep administrés par inhalation notamment suivie par les applications de l'extrait aqueux du lantanier à la dose pure.

- Il n'ya pas eu de toxicité relevée des phytoextraits étudiés quel que soit le cas de figure. L'analyse des toxicités a montré que les applications biologiques aussi bien par inhalation que par contact n'ont pas été toxiques sur les populations cibles, du moins aux doses et au temps d'exposition considérés. Les tribolium, probablement en raison de leur épaisse cuticule tégumentaire et leur résistance ne réagissent aux effets des principes actifs d'après nos observations. Il semblerait que l'effet toxique pourrait être tardif et se manifester avec un temps d'exposition plus long. Cet aspect mériterait

Conclusion et perspectives

d'être investigué en considérant l'effet des doses sublétales sur les descendances et la fécondité des adultes.

A court terme, il serait judicieux de tester une plus large gamme de concentrations faibles à partir desquelles, des DL50 peuvent être évaluées.

La pertinence pratique de l'utilisation d'extraits phénoliques étant donnée leur rapide dégradation reste à explorer sur les Tribolium et d'autres insectes des denrées stockées de même que l'effet des poudres végétales pouvant facilement être administrées en enrobage des grains, en prenant en considération les températures de stockage.

Les sensibilités et résistances des espèces n'étant pas les mêmes, il serait pertinent de mener d'autres expérimentations à base des mêmes extraits sur des catégories très sensibles ou très résistantes pour étudier une éventuelle sélectivité du principe actif lui-même. Les plantes étudiées ont prouvé leur pouvoir thérapeutique en Algérie et de par le monde du fait de l'activité anti oxydante de leurs polyphénols.

Dans ce travail, nous avons contribué à démontrer un potentiel insecticide des polyphénols foliaires du lantanier et des aiguilles du pin d'Alep. A notre sens, c'est une initiative à la valorisation des potentialités biocides des plantes locales du patrimoine végétal algérien, susceptibles d'être utilisées en phytothérapie.

ANNEXE

ANNEXE

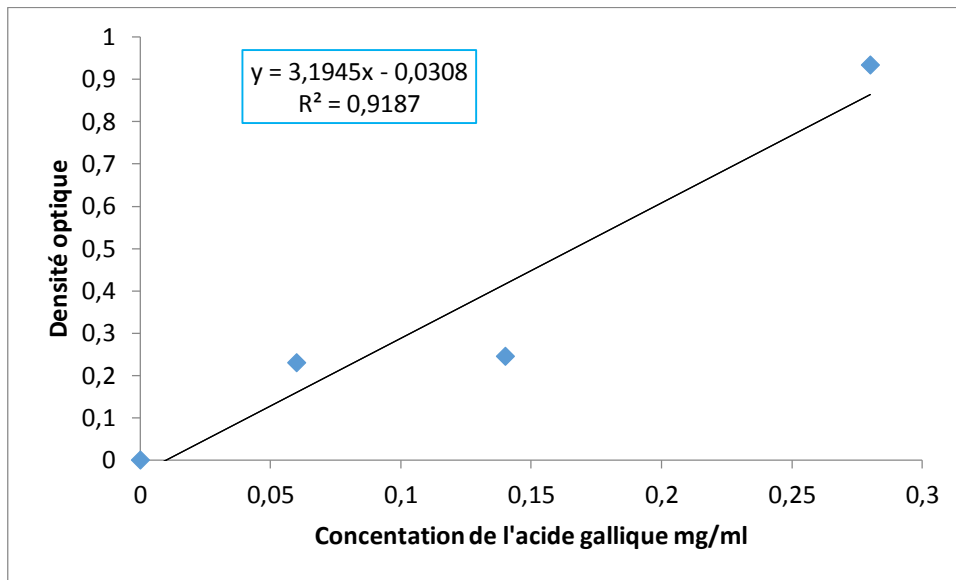


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

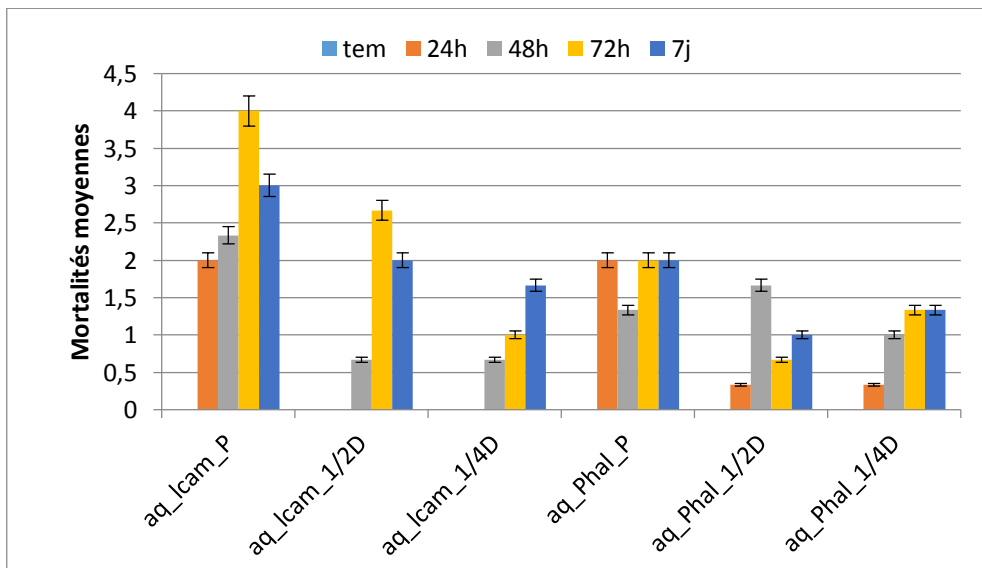


Figure 28 : Variations comparées des mortalités moyennes globales de *T. castaneum* sous l'effet des extraits aqueux de *Lantana Camara* et de *Pinus halepensis*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

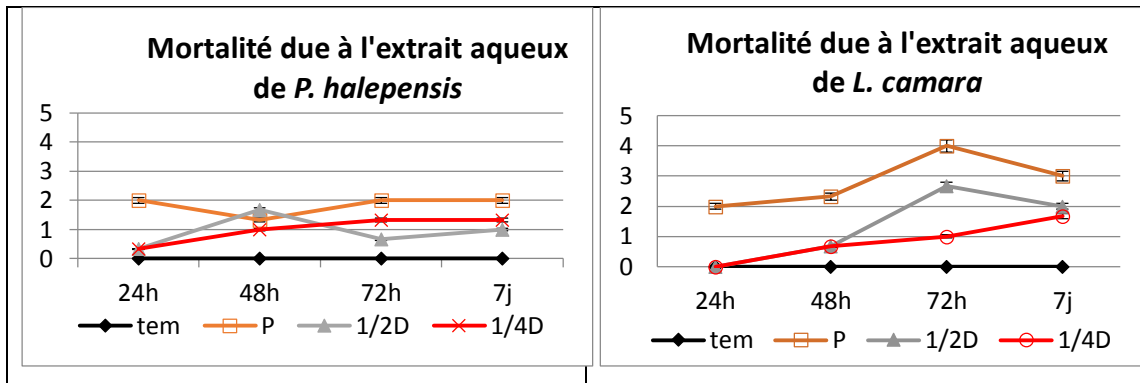


Figure 29 : Evolution temporelle des mortalités de *T. castaneum* traité par les solutions aqueuses de chaque plante.

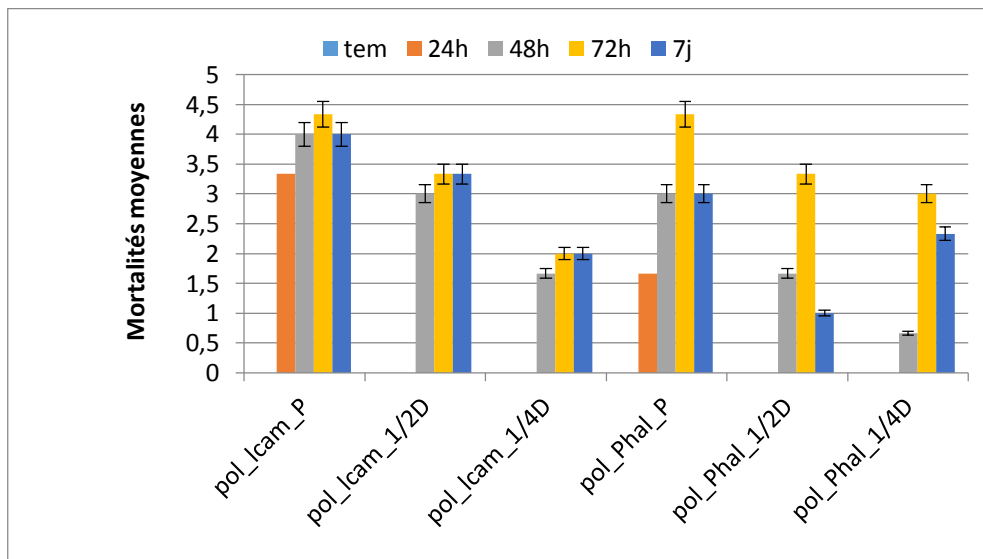


Figure 30 : Variations comparées des mortalités moyennes globales de *T. castaneum* sous l'effet des extraits phénoliques de *Lantana Camara* et de *Pinus halepensis*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

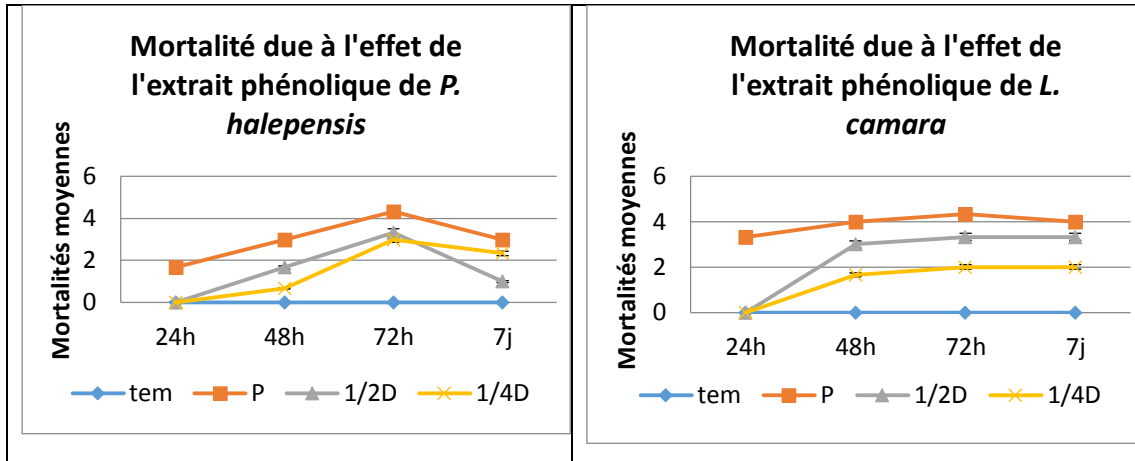


Figure 31 : Evolution temporelle des mortalités de *T. castaneum* traité par les solutions phénoliques de chaque plante.

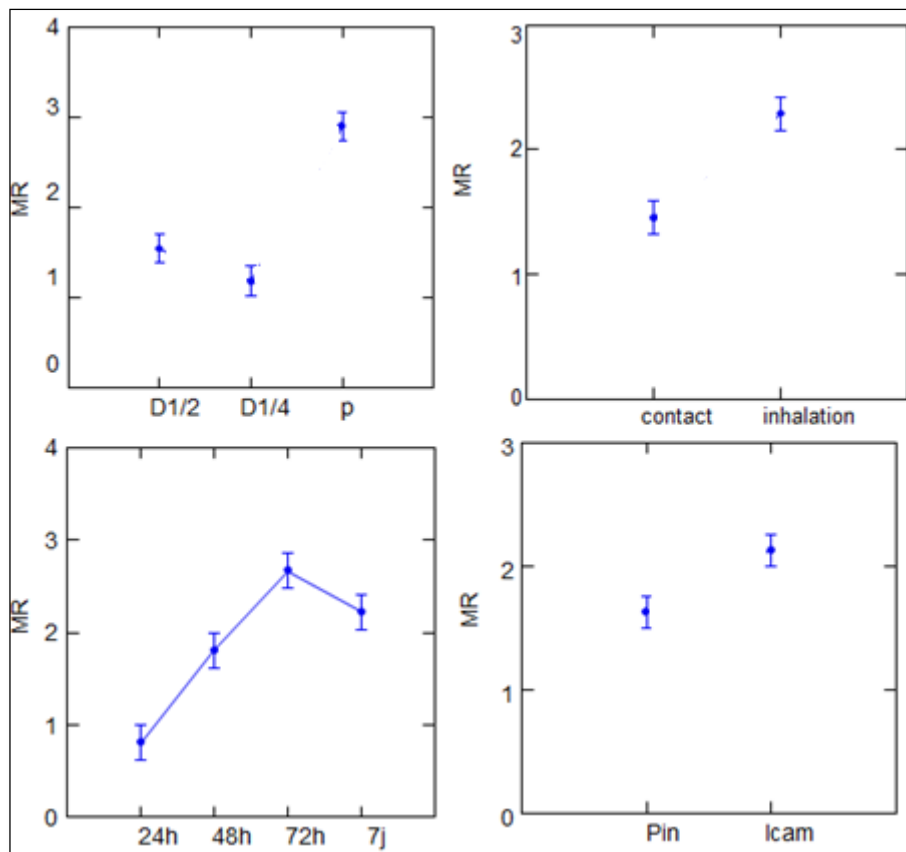


Figure 32 : Résultats de l'analyse de la variance (Modèle linéaire global) des effets comparés des doses d'application des extraits respectifs des deux plantes sur les mortalités de *T. castaneum* en fonction du temps d'exposition aux traitements biologiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

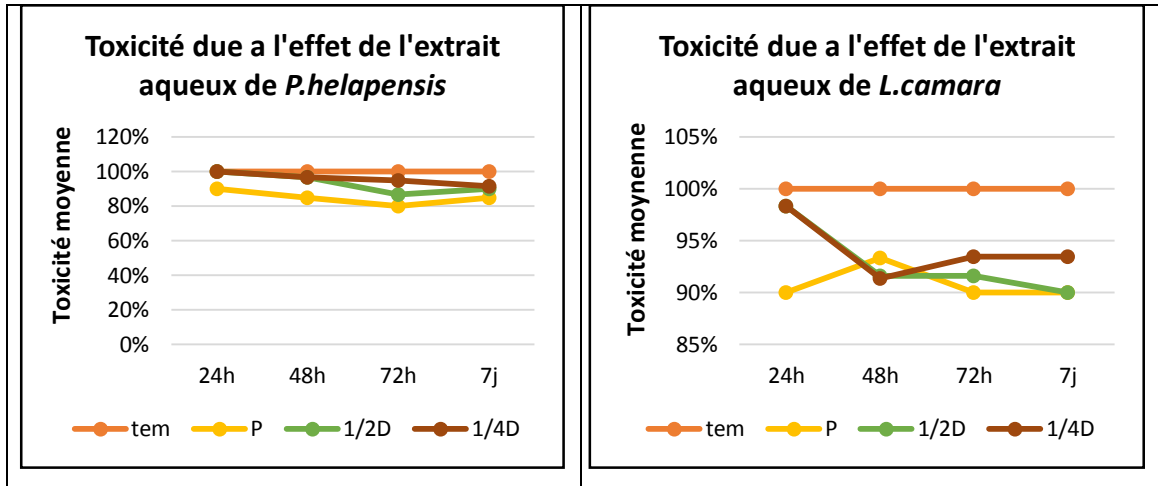


Figure 33 : Variation temporelle des toxicités des solutions aqueuses des deux plantes testées sur *T. castaneum*.

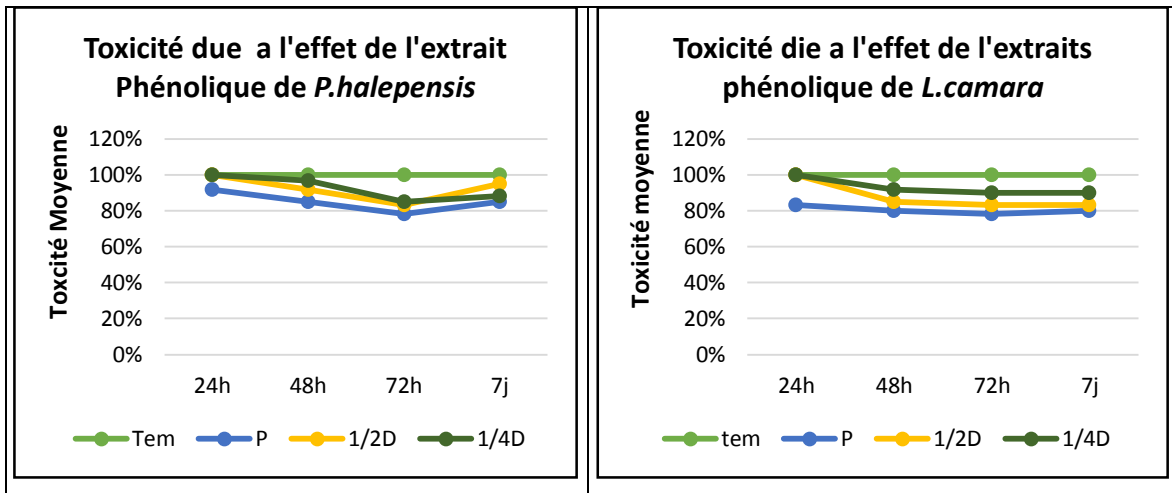


Figure 34 : Variation temporelle des toxicités des solutions phénoliques extraites des deux plantes testées sur *T. castaneum*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

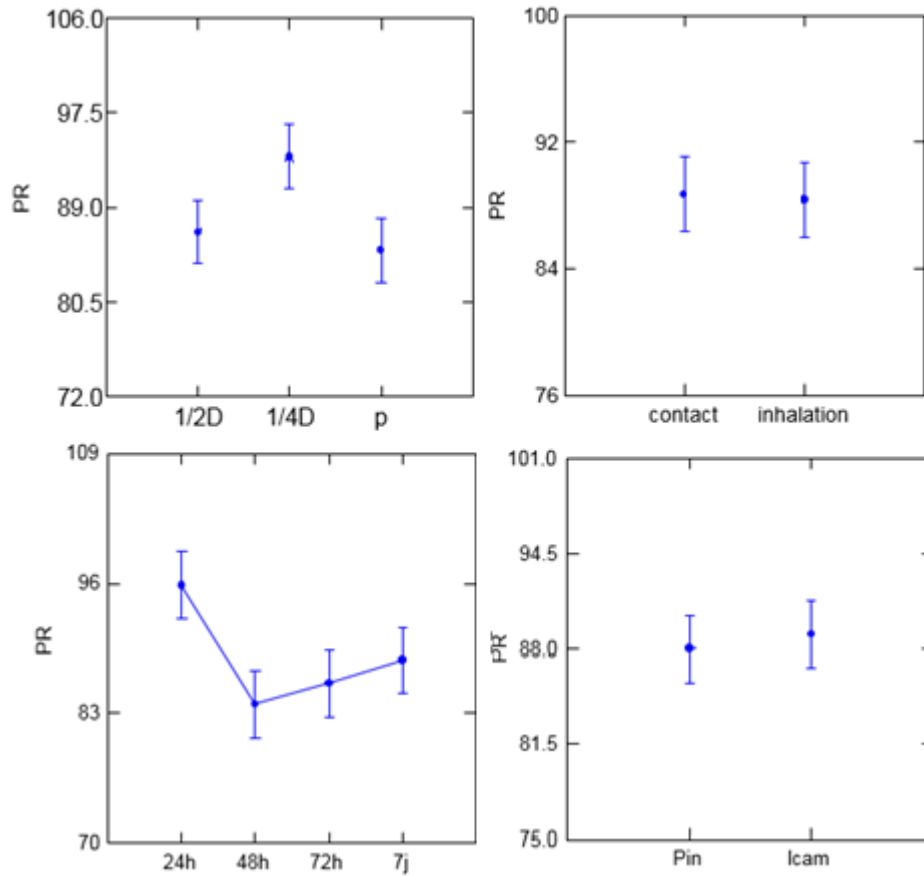


Figure 35 : Résultats de l'analyse de la variance (Modèle linéaire global) des toxicités comparées des deux phytoextraits sous l'effet des doses d'application et du type de traitement en fonction du temps d'exposition.

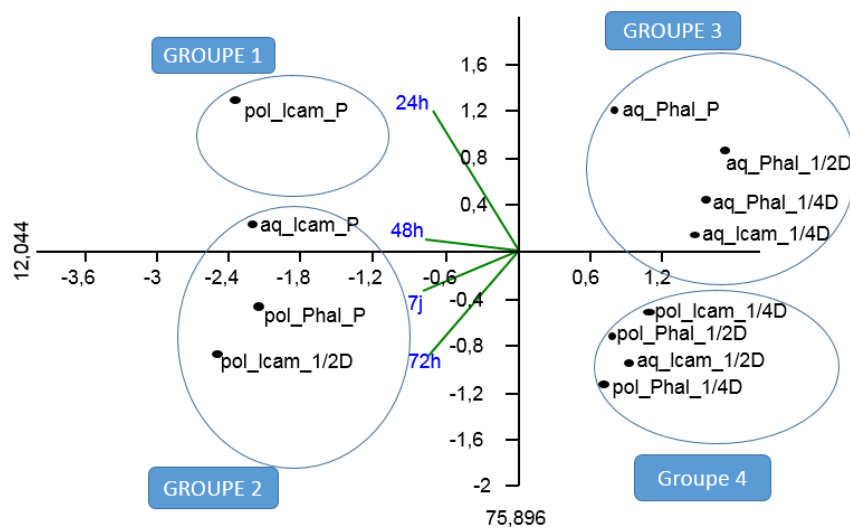


Figure 36 : Analyse en composantes principales (ACP) des mortalités de *Tribolium castaneum* selon les traitements biologiques considérés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

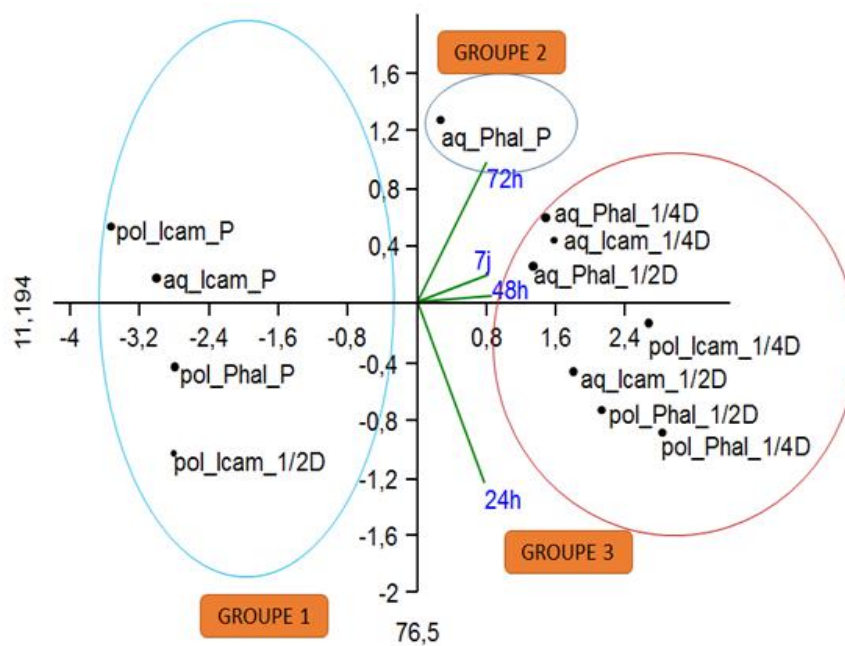


Figure 37 : Analyse en composantes principales (ACP) de pourcentage de population résiduelle de *Tibolium castaneum* dans les deux traitements considérés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. Ahmad F., Rather MASID.,Diqui MA.,2010-**Influence of organic additives on the incidence of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43: 168-173
- 2. Alzouma L., Huignard L., Lnga A.,1994-** Les coléoptères Bruchidae et les autres insectes ravageurs des légumineuses alimentaires en zone tropicale. In Post-Récolte, principes et application en zone tropicale, .79-103
- 3. Andersson S., Dobson HEM .,2003-** Behavioral foraging responses by the butterfly *Heliconius melpomeneto Lantana camara* floral scent. *Journal of Chemical Ecology* 29, 2303-2318.
- 4. Anonyme., 2009-**Antibacterial Activity of *Lantana camara* Linn and *Lantana montevidensis* Brig Extracts from Cariri-Ceará, Brazil.
- 5. Anonyme., 2010-**Composition of essential oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar. *FlavFragr J.* 1999; 14:245–50
- 6. Anonyme .,2010-**Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity. *BMC Complement Altern Med.* 5(1): p. 6.
- 7. Anonyme. ,2012-**Étude ARLA Santé Canada
- 8. Balachowsky AS., 1951-** *La lutte contre les insectes.* Payot, paris.
- 9. Bahorun T., 1997-** Substances Naturelles actives.La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritiass*,p 83-94.
- 10. Barrek S., Paisse O., Florence., M Grenier .,2009-** Caractérisation d'un nouvel insecticide naturel d'origine végétale et ses produits de dégradation en environnement contrôlé
- 11. Benarous (2006).in : Guessar M .**Comparaison de l'efficacité biocide des polyphénols totaux des fruits d'olivier et des écorces d'oranger sur puceron farineux (*hyalopterus pruni*).
- 12. Bentouti ., 2006-** Réflexions sur le dépérissement du Cèdre de l'Atlas des Aurès (Algérie) A. Bentouati in Forêt méditerranéenne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 13. Bloomquist JR., 1996-** Ion channels as targets for insecticides. *Annu. Rev. Entomol.*, 41:163-190.
- 14. Boiteau P., 1986-** Médecine traditionnelle et pharmacopée. Précis de matière Médicale malgache, Agence de Coopération Culturelle et Technique.
- 15. Boulaine J ., 1990-** .deux siècles de fertilisation minérale. In : Académie de l'agriculture : *deux siècles de progrès pour l'agriculture et l'alimentation (1789/1989) Tec & Doc Lavoisier, paris* ,131-146.
- 16. Bounaceur ., 1992** :.In : Fekir S. Contribution à l'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de thym (*thymus capitatus*) Sur *Rhyzopertha dominica* et *Tribolium castaneum*.
- 17. Bouzar Essaïdi K., 2012-** Modulation de la fitness de la chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa schiff* (insecte : Lépidoptères) et effets de l'anthropisation sur des stations à pinèdes littorales. Approche d'une méthode de lutte alternative contre ce ravageur. Thèse de Magister, Université Saad Dahleb, 190p
- 18. Brandt ., 2001 .in : Guessar M** .Comparaison de l'efficacité biocide des polyphénols totaux des fruits d'olivier et des écorces d'oranger sur puceron farineux (*hyalopterus pruni*).
- 19. Brzozowska., Hanower j., Hanower p., 1978.** *Etude du mecanisme de congulation du Latex d'Hevea Brasiliens, , physiol.veg.16* :231-236.
- 20. Cabanis Y., Chabouis L., Chabouis F .,1969-** Végétaux et groupements végétaux de Madagascar et des Mascareignes, Tome I-IV, BDPA, Tananarive
- 21. Cavali JF., 2002-** *Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar.* Thèse. Doc. Chim. Orga. Et analytique, Univ. De Corse Pascal Paoli, Corse (France), 261p
- 22. Carl V L., 1753-**The Shrubs and Woody Vines of Florida
- 23. Cheikh-Rouhou S, Hentati B, Besbes S, Blecker C, Deroanne C, Attia H.** .Composition Chimique des Graines de Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) d'Origine Tunisienne et Caractérisation de la Fraction Lipidique. Le 2ème colloque scientifique

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

international Substances Naturelles : à intérêt thérapeutique, nutritionnel et écologique
Résumé de Poster, p.49.

- 24. Dai N, Schaffer AA, Petreikov M, Granot D .,1995-**Arabidopsis thaliana hexokinase cDNA isolated by complementation of yeast cells. *Plant Physiol* 108(2) :879-80
- 25. Djellout H ., 2009-** Evaluation du pouvoir antibactérien de quatre plantes spontanées. Th. Ing. Agro.Univ Blida. 60P
- 26. Daniel .,1956 :** In .Fekir S, Hamzi M. Contribution à l'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle et l'extrait aqueux de thym (*Thymus Capitatus*) Sur *Rhyzopertha dominica ET Tribolium castaneum*
- 27. David, R M., Moore., MR., Finney., D C., and Guest.,2000-**Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in rats. *Toxicol. Sci* 55, 433–443
- 28. Day ML., Hogmire HW., Brown MW., 1995** -Biology and management of rose leafhopper (Homoptera :Cicadellidae)on apple in West Virginia.J .*Econ Entomol* . , 38 :1012-1016.
- 29. Dellil K. 2013-** Thèse de Master en Phytopharmacie appliquée, Univ.Blida.
- 30.DethierVJ.,1976** -*Man's Plague ? Insects and Agriculture*. The Darwin Press Inc .,Princeton, New Jersey.
- 31 .Dewick PM..** The biosynthesis of shikimate metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 1995, 12: 579
- 3. Diniz-Filho., JAF. Bini LM. Hawkins BA., 2003.** Spatial autocorrelation and red herrings in geographical ecology. *Global Ecol. Biogeogr.* 12, 53–64.
- 32. El Modaffar C, Tantaoui A, el Boustani E (2000).** Effect of caffetoylshikimic acid of date palm roots on activity and production of *Fusarium oxysporum* f.sp.albedinis cell wall.degrading enzymes .J. *Phytopathol.*,148 :405-411.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 33 . Fadel F., Fattouch S., Tahrouch S., Lahmar R., Benddou A., Hatimi A., 2011-** The phenolic compounds of *Ceratonia siliqua* pulps and seeds. *J. Mater. Environ. Sci.* 2 (3) (2011) 285-292.
- 34 . Fethouane H., 2013-** Approche de l'effet biocide des métabolites secondaires des extraits de l'olivier sauvage et du lantanié sur quelques ravageurs. Thèse de Master en Phytopharmacie appliquée, Univ.Blida
- 35 . Fleeger JL.,Flipse IJ .,1964-**Metabolism of bovine semen XIII. Malonic acid metabolism by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 1964, 47 (5) : 535-.538
- 36. Fleurat I.,1994-**Écophysiologie des Arthropodes nuisibles aux stocks de céréales en Afrique tropicale : In Post-Récolte, principes et application en zone tropicale, *estemiaupelf Verstraeten*, 1-61p
- 37. Forestieri A.M., Monforte M.T., Ragusa S., Trovato A., Iauk L.,1996.** Antiinflammatory, Analgesic and Antipyretic Activity in Rodents of Plant Extracts used in African Medecine, *Phytotherapy Research*, 10, 100-106.
- 38. Fournier.,1988-** *chimie des pesticides, Cultures et Techniques, Agences de CoopérationR Culturelle et Technique.* Tec & doc-Lavoisier, Paris.
- 39. Gakuru S., Foua BK.,1996-** Effects of plant extracts on the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* Fab.) and the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *Cah. Agric.* 5 (1), p. 39–42
- 40 . George S., Brat P., Alter P., Amiot MJ .,2005-** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived product, *J.Agric.Food Chem*, 53: 1370-1373.
- 41. Ghisalberti EL., 2000.** *Lantana camara* L. (*Verbenaceae*). *Fitoterapia*, 71: 467-486
- .42 .Grainge M.,Ahmed S .,1988-**Handbook of plants wih pestcontrol properties.John wiley & Sons ,New York
- 43. Gwinner J., Hamisch R., Muck O.,1996-** Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte, GTZ, Eschborn, 368.
- 44. Harborne JB.,1989-**Higher plant-lower plant interactions :phytoalexins and phytotoxines.In : Harbone JB. *Introduction to Ecological Biochemistry.Academic press*, 302-340.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 45. Harborn Jb., And Brardley M., 1985-**Z .Naturforsh,40c :305.
- 46. Hart JH., 1981-** Role of phytostilbenes in decay and disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 19: 437-458.
- 47. Hrt NK., Lemberon JA., Sioumis AA., Suares H.,1976-** New triterpenoids of *Lantana camara*. A comparative study of the constituents of several taxa. *Australian Journal of Chemistry* 29 : 655-671
- 48. Haslam E .,1994-** Natural polyphenols (vegatable tannins):*Gallic Acid metabolism*. 11, 41-66
- 49. Hopkins WG., 2003-**Physiologie végétale. Ed Debock et lancier. p 276
- 50. Jacobson., 1983-** Insecticides, insect repellants, and attractants from arid / semiarid-land plants
- 52. Kadik B., 1987-** Contribution à l'étude du pin d'Alep en Algérie. Ecologie, dendrométrie et morphologie. Ed. OPU. Alger, 508p.
- 53. kadari A.,2012-**.Etude exploratoire des acides gras polyinsaturés des aiguilles de pin
- 54. Khan M., Srivastava SK., Shyamsundar KV., Singh M., Naqvi AA., 2002-** Chemical composition of leaf and flower oil of *Lantana camara* from India. *Flavour and Fragrance Journal* 17, 75-77.
- 55. Ladjal S ., 2012-**activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolés du pin d'Alep (*Pinus halepensis*Mill.) de la région de M'sila
- 56. Larson RO., 1989.**-the commercialization of neem.in : jacobson. *focus on phytochemical pesticides. Vol.1. The neem tree*. CRC Press, Boca Raton,FL,155-168.
- 57. Lauwerys R .,1990-***Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles* , Masson Paris.
- 58. Lepesme .,1944 -**Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés Ed. p. Lechevalier, Paris, 335.P.
- 59. Lepigre AL. ,1966-**La désinsectisation des stocks de céréales. Ed .Off interprof, des céréales Paris , 406.
- 60. Maarouf A .,2000-** Dictionnaire botanique ,p129

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 61. Macheix JJ., Fleuriet A., Christian A .,2005-** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique
- 62. Markham, R.H., Borgemeister, C., Meikle, W.G., 1994-**Can biological control resolve the larger grain borer crisis? In: Highley, E., Wright, E.J., Banks, H.J., Champ, B.R.(Eds.), Proceedings of the 6th International Conference on Stored-Product Protection, 17-23 April 1994, Canberra, Australia, CAB, Wallingford, UK, pp.1087
- 63. Matsumura F., 1975-***toxicologie of insecticides*. Pelenum press, New York.
- 64. Mebarkia A., Guech A ., 2006 -**Protection Phytosanitaire Contre les Ravageurs des Céréales Stockées. Laboratoire de Microbiologie et de phytopathologie, Faculté des Sciences, UFA-Séti
- 65. McEwen FL., Stephenson GR .,1979-**the use and significance of pesticides in the environment.John Wiley & Sons, New York.
- 66.Miliauskas G., Venskutonis PR., Van Beek TA., 2004-** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. Food chemistry ., 85 : 231-237.
- 67. Nagassoum MB., Yonkeu S., Jirovetz L., Buchbauer G., Schmaus G., Hammerschmidt FJ., 1999-**Chemical composition of essential oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal* 14, 245-250.
- 68. Nardo EAB.,AS Costa .,A.L lorençao.,1997-**Melia azeedarach extract as an antifreedan to Bemisia tabaci(homoptera.aleyroididae).FIA.Ent.80(1) :92-94.
- 69. NAS., 1969-** *Insect pest management and control*. National Academy of Science
- 70. Ofuya TL., 1986-** Use of word ash, dry chilli pepper fruits and onion scale leaves for reducing *Callosobruchus maculates* (Fabricius) damage in cowpea seeds during storage. *J. Agr. Sci.* 107 (2), p. 467–468.
- 71. Onu I., Aliyu M. Evaluation of powdered fruits of four peppers (Capsicum spp.) for the control of Callosobruchus maculatus (F) on stored cowpea seed.** International Journal of Pest Management. 1995;41(3):143–145.
- 72. Pesson P., 1990-**protection des cultures de la révolution à nos jours : de l'empirisme a l'organisation de la lutte intégrée, In Académie de l'Agriculture, *deux siècles de progrès pour l'agriculture et l'alimentation* (1789-1989), Tec & Doc – Lavoisier, paris, 169-190.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

73. **Philigene BJR., regnault C., vincent C .,2003** -les produits phytosanitaires d'origine végétale.
74. **Regnault-Roger C., Caupin HJ .,1994**-compositions insecticides à base d'undécyléante de méthyle, brevet FR 94.07237 du 14.06.94.
75. **Relinger LM., Zettler JL., Davis R .,Simonaitis RA., 1988-** .Evaluation of pirimiphos methyl as a protectant for export grain. 81 : 718-21
76. **Ribéreau-Gayon J., Peynaud m., Ribéreau-Gayon P ., Sudraud P .,1972 -** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. Ed. Dunod, Paris p. 671.
77. **Richter G.** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes ,1993, 322-323
78. **Saleh M., 1974**-Gas chromatographic analysis of the essential oil of *Lantana camara* L. varieties.*Planta Medica* 25, 373-375.
79. **Sallé A., Monclus R., Yart A., Garcia J., Romary P., Lieutier F., 2005-** Variations of frequencies and virulence of associated fungal flora in relation to *Ips typographus* population levels and aggres-siveness. Can. J. For. Res. 35:365 – 373.
80. **Schmutterer H .,1992**-Higher plants as sources of novel pesticides. In : Otto D ,Weber B.*Insecticides :mechanism of action and resistance*.Intercept LTD Andover,UK ,3-15.
- 81 . **Sefiane Tsouri A., 2011-** Thèse d'ingénieur en sci.agro. Univ. Blida
- 82 . **SFA.** Société Française des Antioxydants .2005-Conte rendu de la conférence polyphenols (23/24 NOV2005). Institut des corps gras. ITERG
- 83 . **Sharma OP., Sharma PD.,1989**-Natural products of the Lantana plant- the present and prospects.*Journal of Scientific and Industrial Research* 48, 471-474.
- 84 .**Siddiqui BS, Raza SM, Begum S, Siddiqui S.,1995**-Pentacyclic triterpenoids from *Lantana camara*.*Phytochemistry* 38, 681-685
- 85 . **Singh G, Pandey SK, Leclerq PA, Sperkova J ., 2002**-Chemical constituents of the leaf oil of *Lantana indica* Roxb. from north India. *Journal of Essential Oil Research* 14, 346-347.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 86 .Singh G., Srivastava P., Narayanan CS., Padmakumari KP., 1991**-Chemical investigation of the essential oil of *Lantana camara*. Indian Perfumer 35, 209-211
- 87. Steffan JR., 1978** - Ecologie des denrées stockées .
- 88 . Temagoult O., 2005** -recherche d'un substrat de culture pour la production des plants en pépinière thèse magister agro Batna. p 118
- 89 . Thiam A, Ducommun G .,1993**-protection naturelle des végétaux en Afrique. ENDA Editions, Série Etudes et recherches n° 154-155-156, Dakar, Sénégal.
- 90. Throne LE., 1994**-Life history of immature maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on cornstored at constant temperatures and relative humidities .
- 91.-Tschirley FH .,1979**-the role of pesticides in increasing agricultural production
- 92. Urquiaga I., Leighton F.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biol. Res. 2000; 33: 55-64.
- 93. Vendarmin GG.,2000**-chloroplast DNA polymorphism reveals little geographical structure in castanea sativa Mill.throught southern european countries.molecular eology 9 ,1495-1503
- 94. Ware GW .,1991**-Fundamentals of pesticides.A Self- instruction guide. 3rd ed. Thomson Publ.Fresno,CA.
- 95. Weinzeirl R .,1998**- Botanicals insecticides, soaps and oils .In : Rechcigl JE, Rechcigl NA *Biological, biotechnological control of insect pest* In.Lewis publ. Boca Raton, Florida, 101-121.
- 96. Williams LAD., Mansingh A., 1993**- Pesticidal potential of tropical plants - I. Insecticidal activity of leaf extracts of sixty plants. *Insect Sci. Applic.* **14** (5), p. 697–700.
- 97. Woodward S.,Pearce RB.,1988.**-Wound-associated responses in Sitka spruce root bark challenged with *Phaeolus schweinitzii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*33 151 –162
- 98. Yakhlef G., 2010**- Etude de l'activité biologiques de feuilles de *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis*. Thes mag. Univ Batna. 110p.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES