



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences agronomiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomique.

Spécialité : protection des végétaux

Thème

Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles de *Thymus pallescens* (de Noé.) et *Cymbopogon citratus* (Stapf.) contre deux coléoptères de produits entreposés *Sitophilus zeamais* (Motschulsky.) et *Tribolium confusum* (Duval).

Présenté par : BELAIFA *Chahrazed* et SADAOUI *Hanane*

Devant le jury :

Président : M^{eme}S. KERMICHE MAA (Université de BBA)

Encadrant : M^{FD}. MOUTASSEM MAA (Université de BBA)

Examineur 1 : M^{FD}. LAIB MAA. (Université de BBA.)

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

Mes remerciements sont d'abord au Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et la patience pour terminer ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Mr. D. MOUTASSEM pour avoir accepté de m'encadrer. Ses conseils, ses orientations m'ont été très bénéfiques pour la réalisation de cette mémoire, qu'il soit rassuré de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier tout particulièrement Madame S. KERMICHE qui me fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je remercie Monsieur D. LAIB qui a eu l'amabilité d'accepter de faire partie du jury de ce travail.

Je tiens à remercier en particulier. K. REBAI, N. MEKHOUKH, F. et W. DHAMNA responsables des laboratoires pédagogiques de la faculté SNVSTU pour leurs disponibilités, leurs aides précieuses et leurs encouragements.

Enfin, J'exprime ma sincère reconnaissance à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à sa réalisation.



Dédicace

C'est avec des sentiments de joie et de fierté que j'ai achevé ce travail de patience et de longue haleine, un mémoire qui vient couronner mes cinq années d'étude universitaire

Je profite cette occasion qui marquera à jamais mon cursus universitaire pour dédier ce mémoire à tous ceux qui m'ont apporté aide et soutien en particulier mes très chers parents ABDERRAHMANE et NORA

À mon cher frère MOHAMED

À mes très chères sœurs KHAWLA et IMANE

Et bien sûr à mon mari RACHID qui me tient à cœur

À Tous mes amis et collègues

Aussi, Je tiens à exprimer ma sincère gratitude ainsi que mes vifs

Remerciements à mon encadreur Mr D. MOUTASSEM

Dont les conseils et les orientations m'ont été

Bénéfiques et qui m'ont permis d'achever avec brio et succès cette thèse modeste mais valeureuse.

CHAHRAZED





Dédicace

À la fin des années des Efforts a abouti à ce travail qui a recueilli tout ce que j'ai appris dans mon cursus.

Avec une grande fierté, je dédie ce mémoire de fin d'étude à :

Ma mère est mon paradis. Et mon père est mon âme.

Et à ma grand-mère et mon professeur Mm Talhi Samia et Mm Seddiki Nadia, et vous en particulier à mon professeur Moatasem Daho

Et à mon mari lotfi choudida

Et à mes sœurs Aicha, Amira, Kheira, Fatima et mon oncle laid et toute la famille Sadaoui et Mes tantes et toute la famille Labgaa

Et à Mama Nora et mon frère Farouk.

Et tous mes amies Sarah, Asia, Asma, Chahrazed, Amina Basma, Chahinez, Merem, Nawal et Leila.



Hanane

Résumé

La présente étude a été conduite pour évaluer l'activité insecticide des huiles essentielles (HEs) de *Thymus pallescens* et *Cymbopogon citratus* contre *Sitophilus zeamais* et *Tribolium confusum*. La toxicité contre ces deux ravageurs a été évaluée par inhalation et par contact. Les deux huiles essentielles testées ont montré une activité insecticide très prononcée et dose-dépendante. Les résultats obtenus dénotent une mortalité corrigée variable entre par contact et par inhalation de la population de *S. zeamais* avec les concentrations 40 et 100 μL de l'huile essentielles de *T. pallescens*, respectivement. Par ailleurs, la même huile essentielle qui engendre une mortalité corrigée variable entre 76.67 et 80% par contact et 66.67 à 80 % par les concentrations 40 et 100 μL , respectivement. Les deux ravageurs ont avéré plus au moins résistants contre L'huile essentielle de *C. citratus* que ce soit par contact ou par inhalation. Néanmoins, les valeurs de la DL_{50} obtenus reproduisent les résultats obtenus et les DL_{50} les plus inférieures ont été obtenus par l'huile essentielle de *T. pallescens* par contact environ 55.08et 69.50 μL contre *S. zeamais* et *T. confusum*, respectivement. En revanche, les DL_{50} sont constatées très élevées par *C. citratus* et par inhalation environ 76.33et 97.03 μL , respectivement. L'analyse des réserves énergétiques chez les inhalations traitées indiquent un effet significatif sur le taux des lipides, protéines et glucides. Une augmentation des teneurs en protéines et des glucides chez les insectes traités avec les concentrations les plus élevés. Par contre, une augmentation des taux des lipides a été constaté notamment chez *S. zeamais*. Les plantes botaniques à l'étude ont montré une activité de protection des grains considérable contre les espèces d'insectes testées et pourraient être incluses dans les stratégies de gestion intégrée des ravageurs des denrées stockées.

Mots-clés : Huiles essentielles, *Thymus pallescens*, *Cymbopogon citratus*, *Sitophilus zeamais* et *Tribolium confusum*, réserves énergétiques.

Abstract

The present study was designed to assess the insecticidal activity of the essential oils (EOs) of *Thymus pallescens* and *Cymbopogon citratus* against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium confusum*. The chemical composition of the plant oils was identified by gas chromatography (GC) and GC/mass spectrometry (MS). Fumigant and contact toxicities of the essential oils were evaluated against. The effects of the essential oils on energetical reserves were examined. All of the tested essential oils showed insecticidal activities against the test insects in a dose-dependent manner. The obtained result showed that *S. zeamais* was more susceptible to the tested EOs than *T. confusum*. Therefore, EO of *T. pallescens* was more effective against both species. The oils of *T. pallescens* generate a corrected mortality variable between 76.67 and 80% by contact and 66.67 to 80% by fumigation at the concentrations 40 and 100 μL , respectively. Both insects showed more or less resistant against *C. citratus* EO also by contact or by fumigation. Nevertheless, the values of the DL_{50} obtained to reproduce the results obtained and the lowest DL_{50} were obtained by the EO of *T. pallescens* by contact at about 55.08 and 69.50 μl against *S. zeamais* and *T. confusum*, respectively. On the other hand, the DL_{50} values are found to be very high by *C. citratus* and by inhalation at about 76.33 and 97.03 μl , respectively. The analysis of energy reserves in treated inhalations indicates a significant effect on the level of lipids, proteins, and carbohydrates. An increase in protein and carbohydrate levels in insects treated with the highest concentrations. On the other hand, an increase in lipid levels has been observed especially in *S. zeamais*. The botanicals studied showed considerable grain protection activity against the tested insect species and could be included in integrated pest management strategies for stored products.

Keywords: Essential oils, *Thymus pallescens*, *Cymbopogon citratus*, *Sitophilus zeamais*, *Tribolium confusum*, energy reserves

ملخص

تم إجراء هذه الدراسة لتقييم سمية الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات الزعتر (*Thymus pallescens*) والليموني (*Cymbopogon citratus*) ضد كل من سوسة الذرة (*Sitophilus zeamais*) وخنفساء الدقيق (*Tribolium confusum*) وذلك عن طريق الملامسة والاستنشاق. وقد أظهرت كل من الزيوت الأساسية التي تم اختبارها سمية واضحة تعتمد على الجرعة. وقد أظهرت النتائج حدوث تغير في معدل الوفيات الناتجة عن تغيير نسبة الملامسة والاستنشاق بالنسبة لسوسة الذرة بتركيز 40 و100 ميكرو لتر من الزيت العطري الزعتر على التوالي 76.67 و80% عن طريق التلامس و66.67 و80 عن طريق الاستنشاق وقد أثبتت كلتا الحالتين مقاومة أقل أو أكثر ضد الزيت العطري لليموني وهذا ما تؤكد قيم DL_{50} عن طريق الملامسة في حوالي 55.08 و69.50% ميكرو لتر ضد سوسة الذرة وخنفساء الدقيق على التوالي. ومن ناحية أخرى تم العثور على قيم DL_{50} لتكون عالية جدا من قبل زيت ليموني عن طريق الاستنشاق حوالي 76.33 و97.03 ميكرو لتر على التوالي. تشير تحاليل احتياطات الطاقة إلى وجود تأثيرات كبيرة على مستوى الدهون والبروتينات والغلو سيدات. تلاحظ زيادة على مستوى البروتينات والغلو سيدات للحشرات معا من جهة أخرى لوحظت زيادة في الدهون عند سوسة الذرة. وقد أظهرت النباتات التي تمت دراستها نشاط كبير لحماية الحبوب ضد أنواع الحشرات التي تم اختبارها. ويمكن تضمينها في الاستراتيجيات المتكاملة لإدارة الآفات للمنتجات المخزنة.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، الزعتر، الليموني، سوسة الذرة، خنفساء الدقيق، احتياطات الطاقة

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 2. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> sur les populations de <i>S. zeamais</i> et <i>T. confusum</i> | 25 |
| Tableau 3. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> sur les teneurs énergétiques des populations de <i>S. zeamais</i> et <i>T. confusum</i> | 35 |

LISTES DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1. Principaux pays producteurs de céréales dans le monde | 3 |
| Figure 2 . Evolution de la production céréalière nationale 2000-2014..... | 4 |
| Figure 3. <i>Sitophilus zeamais</i> | 8 |
| Figure 4. <i>Tribolium confusum</i> | 10 |
| Figure 5. Photos des insectes utilisés dans cette étude a) : a) <i>Sitophilus zeamais</i> set b) <i>Tribolium confusum</i> | 13 |
| Figure 6. Photos de deux espèces végétales utilisées dans cette étude a) <i>T.pallescens</i> et b) <i>C.citratus</i> | 14 |
| Figure 7. Technique d'élevage de <i>S. zeamais</i> et <i>T. confusum</i> dans les conditions de laboratoire | 16 |
| Figure 8. Appareillage de l'hydro distillation de type Clevenger | 17 |
| Figure 9. Application de l'huile essentielle formulée par <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact direct | 18 |
| Figure 10. Application des huiles essentielles formulée de <i>T. pallescens</i> et <i>C. Citratus</i> par inhalation | 19 |
| Figure 11. Figure 11. Schéma récapitulatif représente le dosage des protéines selon la technique de Bradford | 20 |
| Figure 12. Figure 12.Schéma récapitulatif qui représente le dosage des lipides selon la technique de van Handel | 21 |
| Figure 13. Schéma récapitulatif qui représente le dosage des glucides selon la technique Plaistow <i>et al.</i> , (2003)..... | 22 |
| Figure 14. Boite de pétri contenant des insectes morts après 24h d'exposition au traitement | 23 |
| Figure 15. Effet comparé de l'effet des espèces d'insectes, la méthode d'application, l'huile essentielle, le temps et la dose sur le taux de mortalité corrigée chez les individus de <i>S. zeamais</i> et <i>T. confusum</i> traités par les différentes concentrations des HEs de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> | 26 |

| | |
|--|----|
| Figure 16. Variation des taux de la mortalité corrigée des adultes de <i>S. zeamais</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> par contact et par inhalation. | 27 |
| Figure 17. Variation des taux de la mortalité corrigée des adultes de <i>S. zeamais</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation. | 28 |
| Figure 18. Variation des taux de la mortalité corrigée des adultes de <i>T. confusum</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> par contact et par inhalation..... | 31 |
| Figure 19. Variation des taux de la mortalité corrigée des adultes de <i>T. confusum</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation..... | 32 |
| Figure 20. Résultats de la DL ₅₀ des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation sur <i>S. zeamais</i> et <i>T. confusum</i> | 34 |
| Figure 21. Effet comparé de l'espèce d'insecte, l'huile essentielle et la dose sur le taux des protéines, des lipides et des glucides chez les individus de <i>S. zeamais</i> et <i>T.confusum</i> traités par les différentes concentrations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> | 36 |
| Figure 22. Variation des taux de des glucides chez les adultes de <i>T. confusum</i> et <i>S. zeamais</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation..... | 38 |
| Figure 23. Variation des taux des protéines chez les adultes de <i>T. confusum</i> et <i>S. zeamais</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation..... | 39 |
| Figure 24. Variation des taux des lipides chez les adultes de <i>T. confusum</i> et <i>S. zeamais</i> exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation..... | 40 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| Introduction | 1 |
| CHAPITRE I. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| 1. Généralités sur les Céréales | 3 |
| 1.1. Les céréales dans le monde | 3 |
| 1.1.2. Les céréales dans l'Algérie | 3 |
| 1.1.3. Stockage des céréales | 5 |
| 51.1.3. Les différentes méthodes de stockage des céréales | 5 |
| 1.1.3.1. Stockage traditionnel | 5 |
| 1.1.3.2. Stockage en silos | 6 |
| 1.1.3.3. Stockage en gerbe | 6 |
| 1.1.3.4. Stockage en épis | 6 |
| 1.1.3.4. Stockage en vrac | 6 |
| 1.1.3.5. Le stockage en sac..... | 6 |
| 1.1.4. Paramètres d'altération des grains | 6 |
| 1.1.4.1. Facteurs physiques..... | 7 |
| a- La température | 7 |
| b- Humidité | 7 |
| c- La teneur en oxygène et en gaz carbonique | 7 |
| 1.1.4.2. Altérations d'origine enzymatique | 7 |
| 1.1.4.3. Altérations d'origine biologique | 7 |
| 2. Description et biologie des deux espèces des Coléoptères des denrées stockées..... | 8 |
| 2.1. Le charançon du maïs (<i>Sitophilus zeamais</i>)..... | 8 |
| 2.1.1. Les caractères généraux de charançon du maïs | 8 |
| 2.1.2. Position systématique de charançon du maïs | 9 |
| 2.1.3. Biologie de <i>Sitophilus zeamais</i> | 9 |
| 2.1.3. Dégâts de <i>Sitophilus zeamais</i> sur le maïs. | 10 |
| 2.2. Le Tribolium brun de la farine (<i>Tribolium Confusum</i>) | 10 |
| 2.2.1. Les caractères généraux de Tribolium | 10 |
| 2.2.2. Position systématique de <i>Tribolium confusum</i> | 11 |
| 2.2.3. La biologie de <i>Tribolium confusum</i> | 11 |
| 2.2.4. Morphologie de <i>Tribolium confusum</i> | 12 |

| | |
|-------------------|----|
| a- L'œuf | 12 |
| b- La larve | 12 |
| c- La nymphe..... | 12 |
| d- L'imago | 12 |

CHAPITER II. MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|----|
| 1. Matériel biologique | 13 |
| 1.1. Matériel animal | 13 |
| 1.2. Matériel végétal | 13 |
| 1.2.1. <i>Thymus pallescens</i> | 14 |
| 1.2.1.1. Origine et définition de <i>Thym</i> | 14 |
| 1.2.1.2. Classification des plantes testées | 14 |
| 1.2.1.3. Description botanique et classification de <i>Thym</i> | 14 |
| 1.2.2. Citronnelle <i>Cymbopogon citratus</i> | 15 |
| 1.2.2.1. Origine et définition de <i>Citronnelle</i> | 15 |
| 1.2.2.2. Classification des plantes testées | 15 |
| 1.2.2.3. Description botanique et classification de <i>Citronnelle</i> | 15 |
| 2. Elevage des insectes | 16 |
| 3. Préparation de matériel végétale et extraction des huiles essentielles | 16 |
| 3.1. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles | 17 |
| 4. Tests biologiques | 17 |
| 4.1. Formulation des huiles essentielles | 17 |
| 4.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de <i>Thymus pallescens</i> et <i>Cymbopogon citratus</i> par contact | 17 |
| 4.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de <i>Thymus pallescens</i> et <i>Cymbopogon citratus</i> par inhalation | 18 |
| 5. Etude des réserves énergétiques | 19 |
| 5.1. Quantification des protéines | 19 |
| 5.2 Quantification des lipides | 20 |
| 5.3. Quantification des glucides | 22 |
| 6. Expression des résultats | 23 |
| 6.1.1. Correction de la mortalité | 23 |
| 6.2. Détermination de la DL ₅₀ | 23 |
| 7. Analyses statistiques | 24 |

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

| | |
|--|----|
| 1. Résultats | 25 |
| 1.1. Rendement en huile essentielle des deux plantes étudiées | 25 |
| 1.2. Effet toxique des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> sur les adultes de <i>T. confusum</i> et <i>S. zeamais</i> | 25 |
| 1.2.1. Effet des HEs du <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> sur les adultes de <i>S. zeamais</i> | 28 |
| 1.2.1.1. Test par contact | 28 |
| 1.2.1.2. Test par inhalation | 29 |
| 1.2.3. Effet des huiles essentielles du <i>T. pallescens</i> et du <i>C. citratus</i> sur les adultes de <i>T. confusum</i> | 30 |
| 1.2.3.1. Test par contact | 30 |
| 1.2.3.1. Test par inhalation | 33 |
| 1.3. Détermination de la DL ₅₀ par contact et par inhalation des huiles essentielles étudiées | 34 |
| 3.1 Variation quantitative des réserves énergétiques chez les adultes de <i>S. zeamais</i> et <i>T. confusum</i> traités par les HEs de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> | 37 |
| 2. Discussion | 42 |
| CONCLUSION | 47 |
| REFERNCES BIBLIOGRAPHIQUES | |

LISTE DES ABREVIATION

< : Inférieur de

> : Supérieur de

%: Pourcentage

λ : Onde d'absorbance

ACP: Analyse en composantes principales

ADN: Acide désoxyribonucléique

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

ANOVA: Analysis of variance

BSA: Sérum albumine bovine

C°: Celsius

cm: Centimètre

D.O: Densité optique

EROD: Ethoxyrésorufine O-déséthylase

Fem: Femelle

FNUF: Forum des Nations Unis sur les Forêts

g: Gramme

g/l: Gramme par litre

G250 : Bleu de Coomassie

G.L.M : Modèle général linéaire

GST: Activité de la glutathion-S-transférase

G.L.M : Modèle général linéaire

GST: Activité de la glutathion-S-transférase

H: Heure

ha: Hectare

Has: Hasard

HCL : Acide chlorhydrique

Kg/dm³ : Kilogramme par décimètre cube

Km : Kilomètre

m: Mètre

mg/mL: Milligramme par millilitre

mg EQ/gMS : milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme
de matière sèche

µg: Microgramme

µl: Microlitre

min: Minute

ml: Millilitre

mm: Millimètre

mm/an : Millimètre par année

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

nm: Nanomètre

P: Probabilité

Rem: Remplaçante

SAU: Surface agricole utile

Introduction

Les céréales représentent une ressource importante assurant aussi bien pour la consommation humaine et l'alimentation du bétail (Camara, 2009). Elles tiennent la première place quant à l'occupation des surfaces agricoles, dont 70 % de ces terres agricoles mondiales sont emblavées en céréales (Riley *et al.*, 2009). Pour garantir la sécurité alimentaire nationale en matière de céréales, les récoltes doivent être stockées dans des entrepôts durant des périodes variables, allant de quelques jours à plus d'un an (Proctor, 1994). De ce fait, le stockage est un moyen d'assurer le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Waongo *et al.*, 2013).

Les produits alimentaires stockés sont habituellement attaqués par les insectes au cours de leur entreposage depuis le début de la civilisation humaine (Camara, 2009). Cependant, Les insectes ravageurs sont responsables des pertes mondiales très considérables en grains entreposés estimés entre 10 et 40% par an (Rajashekar *et al.*, 2010).

Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de Coléoptères, Lépidoptères et Acariens (Alzouma *et al.*, 1994 ; Fleurat. L, 1994). Parmi les coléoptères, la calandre du maïs (*Sitophilus zeamais* L.) (Coleoptera : Curculionidae) est universellement reconnue comme l'un des plus dommageables de maïs entreposé, non seulement en raison de sa propre consommation, mais aussi parce qu'elle ouvre en plus la porte à tout un ensemble de détritivores, dont le plus fréquent est le Tribolium rouge de la farine (*T. castaneum* et *T. confusum* Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae).

Le Charançon du maïs, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera : Curculionidae), est un ravageur important de grains en raison de son fort potentiel biotique et de sa capacité de pénétration dans la masse de grain (Nascimento de Araujo *et al.*, 2017). Cet insecte peut causer des pertes du rendement environ 85% dans le maïs stocké en raison de la qualité, poids et pouvoir germinatif des graines (Danho *et al.*, 2002). En outre, l'espèce *Tribolium Confusum* (Duval) est un ravageur secondaire qui se nourrit principalement sur les grains endommagés (c.-à-d. poussière de grains) ou d'autres produits céréaliers (Trematerra *et al.*, 2000). Ce ravageur parachever les dégâts (Markham *et al.*, 1994) et entraîne des dégâts supplémentaires.

Les moyens de protection les plus efficaces contre ces ravageurs sont les insecticides chimiques (Relinger *et al.*, 1988). Cependant, pour la protection des semences stockées, les pesticides fréquemment utilisés sont les organophosphorés, les pyréthroides de synthèse et des produits composés à partir des matières actives appartenant aux deux familles (Gwinner *et al.*, 1996).

Introduction

L'utilisation excessive d'insecticides pour le contrôle des insectes des denrées stockées a conduit au développement de la résistance (Abdelgaleil *et al.*, 2016). Toutefois, la résistance des insectes de stockages aux différents insecticides a été signalée pour beaucoup de insectes y compris *Sitophilus oryzae* (F.), *Sitophilus zeamais*(Motschulsky) et *Tribolium castaneum* (Herbst) contre le malathion, pirimiphos-methyl, fenitrothion et phosphine (Pacheco *et al.*,1990). Cependant, les huiles essentielles de plantes aromatiques peuvent fournir des alternatives appropriées de lutte contre les insectes utilisés.

En effet, les substances d'origine naturelle et plus particulièrement les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative de lutte pour la protection des denrées stockées. Leur utilisation a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche cette dernière décennie et a suscité un vif intérêt scientifique traduit par le nombre de travaux traitant de l'efficacité des huiles essentielles dans la protection des grains et des denrées stockées (Shaaya *et al.*,1997 ; Camara, 2009).

L'objectif principal de ce travail consiste à évaluer l'efficacité insecticide par contact et par inhalation de deux huiles essentielles formulées *Thymus pallescens* et *Cymbopogon citratus* contre les ravageurs des céréales stockées à savoir *Sitophilus zeamais* et *Tribolium confusum*. Dans ce travail nous nous sommes intéressés par l'efficacité insecticide des huiles essentielles d'une part et leur mode d'action sur le métabolisme des insectes traités d'autre part. De ce fait, une étude a été réalisée afin de mieux comprendre l'effet des huiles essentielles sur les teneurs en glucides, protéines et lipides des insectes traités.

Dans ce cadre, cette étude est organisée en trois chapitres. Le premier chapitre comporte des données bibliographiques sur l'importance des céréales, les différentes méthodes de leur stockage, la biologie des insectes et les principales méthodes utilisées contre ces ravageurs. Le second chapitre présente les matériels et méthodes utilisés. Le troisième chapitre porte sur les résultats obtenus et discussion. Enfin, nous terminons la présente étude par une conclusion générale.

1. Généralités sur les Céréales

1.1. Les céréales dans le monde

Les céréales sont des graines alimentaires appartenant à 10 espèces végétales, les 3 les plus employés actuellement : blé, riz et maïs ; à cela s'ajoute l'orge, le seigle, avoine, le sorgho, etc...

La récolte de blé a lieu à différentes époques de l'année quelque part dans le monde : en mars en Inde, en mai en Chine, en juillet-août aux USA et Europe, Algérie, en Canada, en hiver à l'Argentine et Australie (Gharib, 2007).

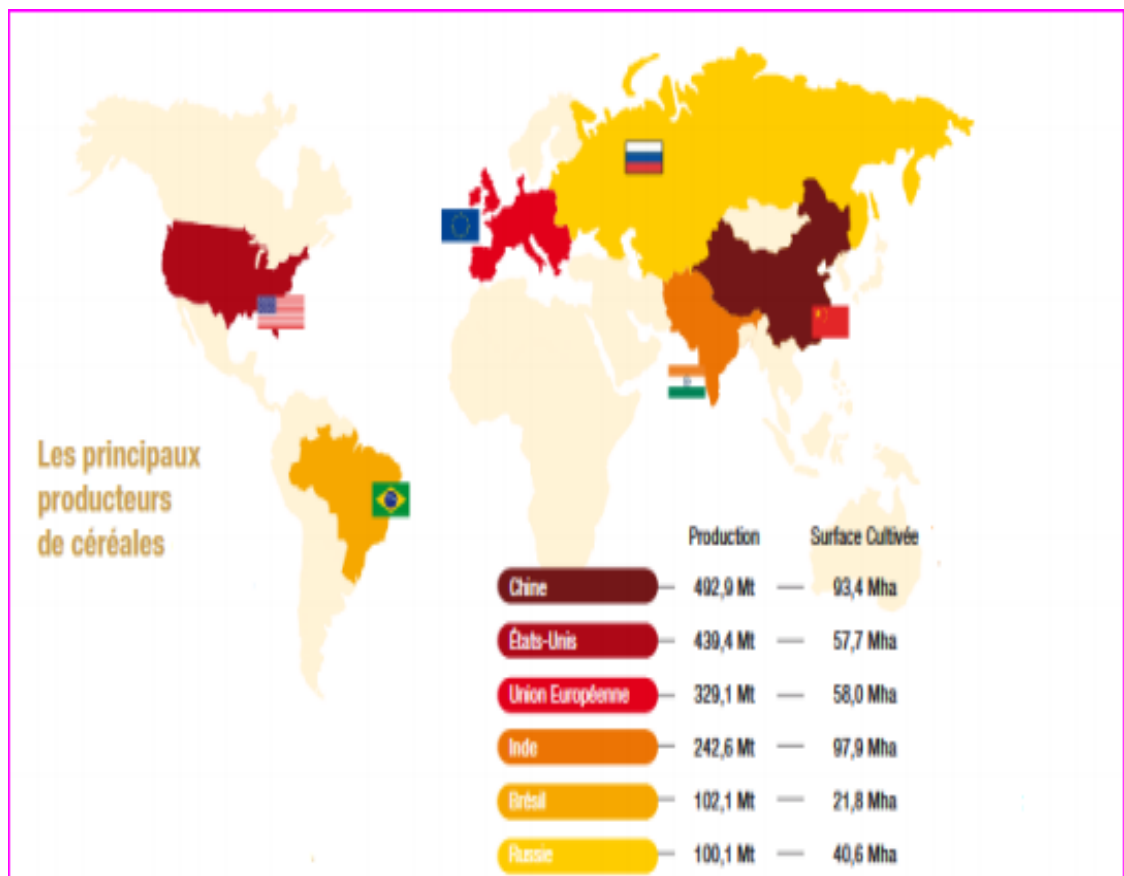


Figure 1. Principaux pays producteurs de céréales dans le monde (USDA, campagne 2014/2015 In : Gleizes, 2016).

1.1.2. Les céréales dans l'Algérie :

Les céréales, base historique de la diète méditerranéenne, occupent aujourd'hui une place prépondérante à la fois dans la production agricole et agroalimentaire de l'Algérie et dans la consommation alimentaire des ménages (Rastoin et Benabderrazik, 2014)

Chapitre I : Analyse bibliographique

Les céréales représentent une ressource importante assurant aussi bien pour la consommation humaine et l'alimentation du bétail. Elles tiennent la première place quant à l'occupation des surfaces agricoles, dont 70 % de ces terres agricoles mondiales sont emblavées en céréales (Riley *et al.*, 2009).

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers toutes les phases de la filière (Djermoun, 2009).

Les céréales en général, le blé en particulier constituent la principale base du régime alimentaire pour le consommateur algérien. En Algérie, le secteur des céréales occupe une place vitale en termes socio-économiques et parfois politique. L'Algérie demeure toujours parmi les grands importateurs de céréales en particulier le blé tendre du fait de la faible capacité de la filière nationale à satisfaire les besoins de consommation croissants de la population. En effet, la production locale de céréales ne couvre qu'un peu plus de 30% des besoins du pays (Ammar, 2014)

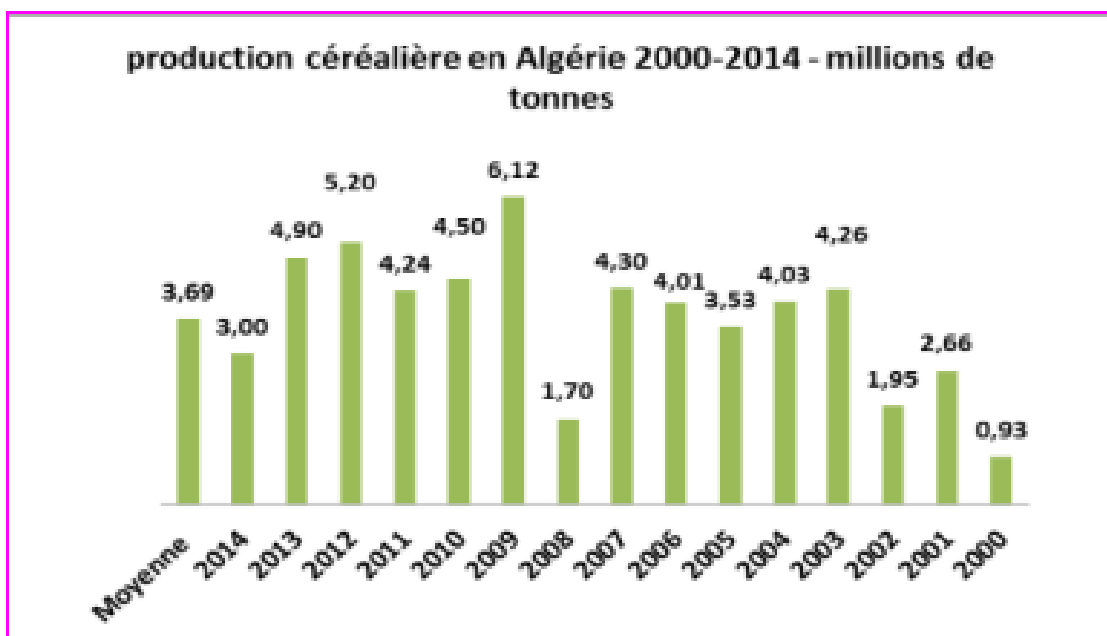


Figure 2. Evolution de la production céréalière nationale 2000-2014(Ammar, 2014).

La production des céréales, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays(Djermoun,2009)

Chapitre I : Analyse bibliographique

Leur production est pluviale (moins de 3% en irrigué) et majoritairement localisée en zone humide et subhumide, dans le Nord du pays. Les céréales concernent environ 590 000 producteurs (58% des exploitants agricoles). En Algérie, les exploitants agricoles (tous produits confondus) sont majoritairement petits avec 717 000 exploitations de moins de 10 ha, soit 70% et 230 000 entre 10 et 50 ha, soit 23%. Les grands agriculteurs (20000, soit 2%) occupent près du quart de la SAU (MADR, 2003).

Les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien, et elles fournissent plus de 60% de l'apport calorifique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire. C'est ainsi, au cours de la période 2001-2003, les disponibilités des blés représentent un apport équivalent à 1505,5 Kcal/personne/jour, 45,533 gr de protéine /personne/j et 5,43 gr de lipide/personne /j (Djermoun, 2009)

1.1.3. Stockage des céréales :

Le stockage et la bonne conservation ont pour but de préserver au maximum les qualités originelles des grains (Nadiay, 1999). Ainsi, la constitution de stocks a proprement révolutionné l'organisation de la société en assurant une alimentation régulière tout au long de l'année (Khaldi, 2009). Plusieurs pays cherchent donc à développer leurs capacités déstockage et leurs dispositifs logistiques, afin de constituer de véritables réserves en blé et ainsi de se protéger des risques d'approvisionnement (Abis, 2012).

En Algérie, la collecte des céréales, dont le blé, est assurée par deux types d'opérateurs : public, il s'agit de l'Office Algérien interprofessionnel des céréales OAIC ou privés (négociants ou transformateurs). Ces agents remplissent un rôle hautement stratégique, car de leur efficacité va dépendre la constitution de stocks et donc la sécurité alimentaire nationale (Rastoin et Benabderrazik, 2014).

L'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC) est un organisme public à caractère administratif et commerciale. Il a pour rôle essentiel d'organiser et de réguler le marché national d'une part, et d'assurer la réception et le stockage des céréales et des légumes secs importés d'autre part (Bencharif et Rastoin, 2007).

1.1.3. Les différentes méthodes de stockage des céréales :

1.1.3.1. Stockage traditionnel :

Le paysan algérien, des hauts plateaux, conservait surtout le produit de ses champs d'orge et de blé, dans des enceintes creusées dans un sol argileux, appelé « El matmour » ou dans des sacs en toiles de jute, entreposés dans divers locaux, magasins ou hangars. La trop forte humidité et les eaux d'infiltration sont les inconvénients majeurs de cette méthode de revue bibliographique (Doumandji *et al.*, 2003).

1.1.3.2. Stockage en silos :

C'est le meilleur lieu de stockage prolongé des aliments solides comme les céréales. Ce sont des enceintes cylindriques en béton armé ou en métal inoxydable, leur emploi réduit la main d'œuvre, augmente l'air de stockage et supprime l'utilisation des sacs onéreux (Doumandji *et al.*, 2003). Le silo de béton armé est facile d'entretien, ininflammable et résiste bien à la corrosion des parois extérieures et aux pressions verticales et latérales des grains et aux chocs (Boudreau *et al.*, 1992)

1.1.3.3. Stockage en gerbe :

Ce type de stockage est mieux encore que celui en épis car le grain est protégé contre l'échauffement et les insectes notamment les charançons, mais les gerbes exigent davantage de travail à la récolte et au transport. Il a deux principaux avantages, le premier c'est qu'il permet de répartir le battage sur tout l'hiver, le second est de permettre une bonne conservation sans séchage artificiel des grains relativement humides (Multon, 1982).

1.1.3.4. Stockage en épis :

C'est une méthode de stockage qui a eu dans le passé une très grande importance. En épi le grain se conserve beaucoup plus facilement qu'en vrac, sans exiger autant de volume qu'en gerbe (Multon, 1982).

1.1.3.4. Stockage en vrac :

Dans ce cas les grains en tas sont laissés à l'air libre dans des hangars ouverts à charpente métallique, malheureusement les contaminations sont possibles d'autant plus que dans ce type de construction ils demeurent toujours des espaces entre les murs et le toit ainsi le libre passage des souris des rats des moineaux des pigeons et des insectes demeure possible (Doumandji *et al.*, 2003).

1.1.3.5. Le stockage en sac

Le stockage en sac a totalement disparu dans les pays développés, par contre il est encore utilisé dans les pays en développement, cette technique est en effet adaptée au mode de commercialisation des produits qui dans ces régions s'effectue essentiellement en sacs. Au niveau des structures elle exige un investissement plus faible que le stockage en vrac (Cruz *et al.*, 1989).

1.1.4. Paramètres d'altération des grains :

Au cours de leur stockage, les grains de blé subissent des altérations diverses (Caid *et al.*, 2008). Ces différents dégâts réduisent la qualité du grain et le rendent impropre à la consommation (Waongo *et al.*, 2013). Ces altérations ont plusieurs origines :

1.1.4.1. Facteurs physiques

a- La température :

La température est le facteur clé responsable des pertes post récoltes. Elle exerce une forte influence sur le taux de respiration des grains stockés et celui des organismes parasites, de même que sur l'humidité relative de l'air, la teneur en eau des produits stockés et enfin sur le développement des ravageurs des stocks (Gwimer *et al.*, 1996).

b- Humidité :

Selon Proctor (1994), la teneur en eau des grains joue un rôle crucial dans le traitement après récolte et c'est à elle aussi que sont associées la plupart des caractéristiques induites. La vapeur d'eau se diffuse dans la masse de grains et des points chauds peuvent se produire aux endroits où la respiration s'accélère. Généralement, les grains sont stockés à une humidité inférieure ou équivalente ≤ 0.70 de l'activité de l'eau pour éviter la détérioration par les micro-organismes, notamment les moisissures (Sharma et Bhandari, 2014).

c- La teneur en oxygène et en gaz carbonique :

En présence d'oxygène, si la température et/ou l'humidité sont élevées, l'amidon est transformé en sucres libres au cours de la respiration du grain, ce qui va produire de la vapeur d'eau, du gaz carbonique et de la chaleur. Quand l'air se trouvant entre les grains est renouvelé avec apport d'oxygène par une faible ventilation ou par tirage naturel, la production de chaleur peut devenir très importante et provoquer un échauffement jusqu'à 55-60°C (Berhaut *et al.*, 2003).

1.1.4.2. Altérations d'origine enzymatique

Elles sont essentiellement provoquées par les enzymes propres du grain. En mauvaises conditions de stockage, ces derniers entrent en activité et favorisent la dégradation de l'amidon et le rancissement des lipides (Berhaut *et al.*, 2003). Ce sont des hydrolases agissant sur les protéines (protéases), les lipides (lipases) et les glucides (glucosidases) ainsi que l'ensemble des équipements enzymatiques complexes qui régissent les phénomènes de respiration et de fermentation (Multon, 1982).

1.1.4.3. Altérations d'origine biologique

Il faut souligner qu'un stock de grains est un écosystème artificiel créé par l'homme et constitué d'un ensemble de différentes entités vivantes, d'une part et obligatoirement les grains avec leur germes et microorganismes (moisissures, levures, bactéries), d'autre part, de façon non obligatoire mais cependant très fréquente, les animaux prédateurs (insectes, acariens, rongeurs et oiseaux) (Multon, 1982).

2. Description et biologie des deux espèces des Coléoptères des denrées stockées

2.1. Le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais*)

Le genre *Sitophilus* est uniquement inféodé aux céréales qu'elle contamine généralement dans les stocks. Il se reconnaît par la présence d'un rostre renflé triangulairement et portant les antennes à sa base. La larve blanche et charnue est apode et mesure de 2 à 4 mm. Parmi les trois espèces du genre *Sitophilus*, seules deux (*S. zeamais* et *S. oryzae*) sont présentes dans les régions tropicales (Seck, 2009). Elles se multiplient dans les graines sèches et causent beaucoup de dommages aux stocks.



Figure 3. Charançon du maïs (*Sitophilus zeamais*).

2.1.1. Les caractères généraux de charançon du maïs

Les charançons *Sitophilus zeamais*, représentent la plus grande famille de coléoptères. Cette famille compte plusieurs espèces dont *S. zeamais*, ravageur principale du maïs. Ils se reconnaissent facilement par leur allure générale et particulière, leur corps souvent trapu et surtout leurs pièces buccales transformées en une sorte de trompe, appelée rostre. Les antennes présentent également une forme caractéristique, coudée à angle droit, avec un premier article (le scape) très long. Les élytres sont contigus et peuvent parfois être soudés, (Anonyme, 2009).

Le genre *Sitophilus* est uniquement inféodé aux céréales qu'elle contamine généralement dans les stocks. Il se reconnaît par la présence d'un rostre renflé triangulairement et portant les antennes à sa base. La larve blanche et charnue est apode et mesure de 2 à 4 mm. Parmi les trois espèces du genre *Sitophilus*, seules deux (*S. zeamais*

et *S. oryzae*) sont présentes dans les régions tropicales (Seck, 2009). Elles se multiplient dans les graines sèches et causent beaucoup de dommages aux stocks.

2.1.2. Position systématique de charançon du maïs

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coléoptères

Sous Ordre : Polyphaga

Famille : Curculionidae

Sous Famille : Dryophthorinae

Genre : *Sitophilus*

Espèce : *Sitophilus zeamais*

2.1.3. Biologie de *Sitophilus zeamais*

S. zeamais ne peut se reproduire que dans un grain dont le taux d'humidité est supérieur à 9,5%, sur un pelage de températures allant de 15 à 35°C. Les femelles adultes pondent environ 200 œufs à une vitesse de 20 à 30 par jours. Ces derniers sont déposés au fond de cavités creusées dans l'endosperme du grain et rebouchées à l'aide d'un tampon mucilagineux (Danho et Haubruge, 2003). Après 8 à 11 jours d'incubation, les œufs éclosent avec une gamme de température allant de 18 à 20°C. Les larves de couleur blanche, apodes, dures, légèrement courbées consomment l'endoderme du grain. Elles muent quatre (4) fois pour finalement se transformer en nymphe après 6 à 8 semaines. Le nombre d'œufs pondus dans un site nourricier, va conditionner en fonction de la quantité de ressources disponibles, l'intensité d'une compétition larvaire (Danho et Haubruge, 2003). Cette compétition larvaire affecte le taux d'émergence des adultes mais aussi la capacité reproductive (Danho et Haubruge, 2003).

Les adultes émergent après 5 à 16 jours supplémentaires. Le plus grand nombre d'individus provient des lots contenant le plus grand nombre de grains (Danho et Haubruge, 2003). Ils vivent environ 8 mois. En effet, les œufs ne sont guère affectés par les ovicides durant les 6 jours d'incubation. Le premier stade larvaire est vulnérable aux conditions de l'environnement (humidité relative, oxygène, densité de la population, température) (Aboubakry, 2010). Il peut y avoir jusqu'à 90% de mortalité à ce stade. Les survivants réussissent généralement à atteindre le stade adulte. Le cycle complet dure de 26 à 35 jours dans les zones tropicales.

2.1.3. Dégâts de *Sitophilus zeamais* sur le maïs.

L'adulte de *S. zeamais* ne cause pas directement de dégâts sur le maïs au champ ni en stock. Ce sont les stades juvéniles qui causent les ravages sur stock puisqu'ils ne vivent jamais à l'air libre et se développent à l'intérieur du grain consommant, avant le stade pupe une partie importante des réserves nutritives du grain de maïs. Les dégâts sont de plus en plus lourds à partir de la 2ème génération. En zone rurale où les techniques de conservation des denrées agricoles sont peu élaborées, ce ravageur peut occasionner des pertes post-récolte pouvant atteindre 90% pendant 5 mois de stockage (Ngamoetal., 2007).

Les insectes ravageurs des grains stockés infestent sévèrement les plantesproduites et sont responsables de la perte mondiale de stockergrains jusqu'à 10-40% annuellement (Rajashekaret al.,2010).

Les coléoptères constituent le groupe le plus important au sein des insectes ravageurs des stocks, ils peuvent être répartis en deux catégories : la première catégorie, celle des ravageurs primaires, pouvant s'attaquer aux grains intacts et dense développera l'intérieur même du grain (O'Kelly, 1983),

Certains d'entre eux pondent leurs œufs à l'intérieur du grain dont les larves se nourrissent à l'intérieur de ceux-ci. Par contre, d'autres pondent leurs œufs à la surface du grain puis les larves pénètrent l'enveloppe dure du grain pour se nourrir (De Groot, 2004).

2.2. Le Tribolium brun de la farine (*Tribolium confusum*) :

2.2.1. Les caractères généraux de *Tribolium confusum* :

Sont des coléoptères de taille comprise entre 2 mm.et 80 mm, de forme très variée, à téguments le plus souvent rigides, épais, noir mat ou luisant, de teinte sombre, coloré où « métallique » par interférence, avec des yeux généralement grands, ovales ou ronds chez certaines sous-familles. Antennes de 11 articles, plus rarement 10. Aptères ou ailées, avec nervation alaire du type primitif, 5 sternites abdominaux, pattes longues ou tout au contraire, contractées, souvent fousseuses (Balachowsky, 1962).



Figure 5. Tribolium brun de la farine (*Tribolium confusum*).

2.2.2. Position systématique de *Tribolium confusum* :

Selon Lapesme (1944) la classification de cette espèce :

Embranchement : Arthropoda.

Classe : Insecta.

Ordre : Coleoptera.

Sous Ordre : Polyphaga.

Famille : Tenebrionidae.

Sous Famille : Ulominae.

Genre : Tribolium.

Espèce : *Tribolium confusum*(Duval.)

2.2.3. La biologie de *Tribolium confusum* :

Le premier accouplement a lieu environ 2 jours après l'émergence des imagos et dure de 3 à 15 minute. Chez *T. Confusum*) l'échelonnement des pontes est conditionné par plusieurs copulations. Les œufs sont pondus en vrac sur les marchandises et ils sont difficiles à déceler. Au cours de sa vie, la femelle pond entre 500 et 1000 œufs.

Les jeunes larves, passent par 5 à 12 stades larvaires selon des conditions de température et d'humidité. La larve, circule librement dans la denrée infestée ou elle nymphose. L'émergence de l'adulte a lieu six jours après la nymphose à 32,5°C et une humidité relative de 70 %, la durée du cycle est de 24 à 26 jours,

Chapitre I : Analyse bibliographique

Tribolium confusum (Duval.) est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32°C et 35 ° C, son développement s'arrête au-dessous de 22°C. Il résiste aux basses hygrométries. (Steffan in Scotti, 1978).

2.2.4. Morphologie de *Tribolium confusum* :

a- L'œuf

L'œuf est oblong et blanchâtre, presque transparent surface lisse recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet d'adhérer à la denrée infestée il mesure en moyenne 0.6 x 0.3 mm (Lepesme, 1944) (fig.4).

b- La larve

L'éclosion de l'œuf donne naissance à une la larve neonate et de couleur blanche, de petite taille ne dépassant pas 1.4 mm. Elle passe par plusieurs stades dont le nombre varie de 5 à 12 selon la température, l'humidité relative et la qualité de l'alimentation. La larve de dernier stade est cylindrique mesure environ 7 mm de long et 0,8 mm de large, sa couleur est d'un jaune pâle. Son corps presque glabre, se termine par deux paires urogomphes (Balachowsky, 1936).

c- La nymphe

Est blanche et nue, les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bords crénelés (Balachowsky, 1936). La nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer.

d- L'imago

L'imago est d'un blanc jaunâtre, son tégument se sclérétinite et se pigmente 2 à 3 jours après son émergence. La couleur devient brun rouge, sa taille atteint 3 à 4 mm Ces élytres allongés, parallèles et arrondis à l'extrémité postérieure, portent des lignes régulières de ponctuation séparées par des cotés très fins (Lepesme, 1944). Les pattes sont courbées, les tarsi postérieurs sont formés de quatre articles.

1. Matériel biologique

1.1. Matériel animal

L'étude a portée sur deux Coléoptères : *Tribolium confusum* (Duval) et *Sitophilus zeamais* au stade adulte, ces derniers ont été prélevés à partir des graines de maïs et de blé déjà infestées. Les échantillons ont été retenus à partir des aires de stockage appartenant aux coopératives de stockage des céréales et des légumes secs (CCLS) de Bordj Bou Arreridj. Les échantillons ont été menés au laboratoire et tamisés afin de récupérer et identifier les insectes adultes.

L'insecte *S. zeamais* est originaire des stocks de maïs des agriculteurs, l'élevage est réalisé dans des bocaux contenant 250g de maïs commercial. Chaque bocal est infesté par 40 adultes l'ensemble placés dans un étuve avec les mêmes conditions de température et de l'humidité que *T.confusum*.



Figure 5. Photos des insectes utilisés dans cette étude a) : a) *Sitophilus zeamais* a et b) *Tribolium confusum* (Originale, 2018)

1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie aérienne des plantes aromatiques et médicinales appartenant à deux familles botaniques à savoir ; *Thymus pallescens* de Noé et *Cymbopogon citratus*. Les plantes tests ont été récoltées de différentes régions dans la willaya de Bordj Bou Arreridj et la wilaya d'Alger.



Figure 6. Photos de deux espèces végétales utilisées dans cette étude a) *T.pallescens* et b) *C.citratus* (Originale, 2018).

1.2.1. *Thymus pallescens* :

1.2.1.1. Origine et définition de *Thym* :

Le nom du *Thym* (en anglais thyme) vient du grec thumos, qui signifie odeur. Plante sacrée, très recherchée dans l'antiquité, le *Thym* était un symbole de force chez les romains ; il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme encens dans les temples grecs. Le *Thym* est originaire du bassin méditerranéen, il existe plusieurs espèces de ce genre dans le monde, et sur celles qui sont actuellement connues, l'espèce *Thymus vulgaris* est toutefois la plus répandue. Au Maghreb, on dénombre autres telles que : *Thymus numidicus*, *Thymus pallescens*, *Thymus ciliatus*, etc... (Richard, 1992).

1.2.1.2. Classification des plantes testées :

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus pallescens*.

1.2.1.3. Description botanique et classification de *Thym* :

Le *Thym* est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye) (Benabid, 2000). C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique (Gherman *et*

al.2005).C'est une plante vivace à tige hérissée, dressée (Delille, 2007).Les feuilles, plus au moins contractées (Quezel et Santa, 1963).

La majorité des espèces de ce genre ont une grande importance, vu leurs propriétés biologiques, pharmacologiques (Ebrahimi *et al.*, 2008),ainsi que leur richesse en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques(Mayet, 2013).

Le *Thym* appartient à la famille des Lamiaceae. Ce groupe constitue une famille botanique très large, qui comporte environ 264 genres largement distribués dans l'aire méditerranéenne (Gurcharan,2010),dont le genre *Thymus* est le plus diversifiés (Naghibi *et al.*, 2005).

1.2.2. Citronnelle *Cymbopogon citratus* :

1.2.2.1. Origine et définition de Citronnelle *Cymbopogon citratus* :

Originaire probablement de l'est de l'Inde et l'Indonésie, la *Citronnelle* n'est connue qu'à l'état cultivé (Teuscher *et al.* 2005).

Des clones ont été créés par croisement et sélection d'espèces de *Cymbopogon*. Les plantes ne fleurissent que rarement. Le terme de *Citronnelle* peut prêter à confusion car il s'adresse souvent, à tort, à d'autres plantes aromatiques dégageant une odeur *Citronnée* comme la mélisse (une Lamiacée), la verveine (une Verbénacée) ou le vétiver (une autre Poacée).

1.2.2.2. Classification des plantes testées :

Règne : plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Ordre : Cyperales

Famille : Poaceae

Genre : *Cymbopogon*

Espèce : *Cymbopogon citratus*

1.2.2.3. Description botanique et classification de la Citronnelle *Cymbopogon citratus*:

La *Citronnelle* est une plante herbacée vivace, formée de tiges serrées pouvant atteindre 1.5 m de haut, lisses et glabres. Elles forment des touffes composées de feuilles linéaires, terminées en pointe, de 90 cm de long sur 3 à 5 cm de large ; ces feuilles sont raides, coupantes, lisses sur leurs deux faces et de couleur vert clair grisâtre ; elles ont une nervure centrale saillante et plus claire, un pétiole engainant et présentent une ligule parcheminée d'à peine 1 mm de long. La plante se termine dans sa partie souterraine par une base renflée comme un oignon mais qui ne correspond pas à un bulbe. Elle ne fleurit qu'exceptionnellement pour donner naissance

Chapitre II. Matériel et méthodes

à une inflorescence terminale, d'une trentaine de cm de long, formée d'épis disposés en panicules lâches, de 6 mm de long (Teuscher *et al.*, 2005)

2. Elevage des insectes

Pour préparer étudier le cycle biologique des insectes un élevage des insectes a été procédé en mettant les deux espèces est maintenue dans des récipients en plastiques, contenant des graines de maïs pour l'élevage de *Sitophilus zeamais* et la Farine de blé tendre pour l'élevage de *Tribolium confusum*. Ces récipients ont été perforés aux niveaux des couvercles pour permettre aux insectes de respirer. Les bocaux ont été mis dans un incubateur avec les conditions favorables de température ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$) et d'humidité (60%).



Figure7. Technique d'élevage de *S. zeamais* et *T. confusum* dans les conditions de laboratoire (Originale, 2018).

3. Préparation du matériel végétale et extraction des huiles essentielles

La partie aérienne des plantes a été lavée par de l'eau distillée stérile et séché à l'obscurité dans un endroit bien aéré à une température ambiante pendant 21 jours. Les feuilles séparées du reste de la plante sont conservées dans des sachets kraft propres à 4°C jusqu'au moment de l'extraction. L'extraction des HEs a été procédée selon la technique d'hydrodistillation par un appareil de type Cleavenger (Clevenger, 1928). Cette technique consiste à mettre en ébullition 200 g de la matière sèche pendant 3h avec 1 L d'eau dans un ballon de 2 L surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. L'huile essentielle récupérée est conservée à 4°C dans des flacons fermés hermétiquement à 4°C .

Chapitre II. Matériel et méthodes

Le rendement en HE est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante traité (Mohammedi, 2006). Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = \text{Pb} / \text{Pa} \times 100$$

Où, R : Rendement de l'huile en %, Pb : Poids de l'huile en g et Pa : Poids de la plante en g.



Figure8. Appareillage de l'hydrodistillation de type Clevenger (Originale, 2018).

3.1. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

Les analyses chromatographiques des HEs ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de type Hewlett-Packard, HP 6890, couplée d'un spectrophotomètre de masse de type (Hewlett-Packard, HP 5595B) équipé d'une colonne capillaire VF WAX et HP-5 de 60 m de longueur, 0.25 mm de diamètre et 0.5 μm d'épaisseur du film. Le détecteur est de type FID (température : 250°C) alimenté par un mélange de gaz H₂-air. Les compositions chimiques des deux HEs sont affichées dans le tableau ci-dessous.

4. Tests biologiques

4.1. Formulation des huiles essentielles

Les HEs obtenues des deux plantes étudiées, ont été formulées par le tween 80 à 3%, et les doses effectuées pour évaluer leur activité insecticide in vitro vis-à-vis les insectes ciblés sont, (100, 80, 40, 20 et 10 μl)

4.2. Evaluation de la toxicité des HEs de *T. pallescens* et *C.citratus* par contact

Pour l'évaluation de la toxicité des HEs formules à base de *T. pallescens* et *C. citratus* contre *Sitophilus zeamais* et *Tribolium confusum* par contact, l'unité expérimentale est constituée par une boîte de Pétri de dimension 9 cm de diamètre et 2 cm de hauteur contenant 10 individus d'insectes.

Chapitre II. Matériel et méthodes

La technique d'application consiste à pulvériser les insectes par cinq doses HEs formulées (100, 80, 40, 20 et 10 μ l). Les témoins sont constitués de la même unité expérimentale traitée avec un mélange d'eau distillée et de tween 80 à 3%. Un lot de 10 insectes adultes âgés de 14 jours a été introduit dans chaque boîte de Pétri qui a été aussitôt fermée. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque HE et pour chaque concentration. Le nombre d'insectes morts a été comptabilisé chaque 24 heures pendant 4 jours de traitement.



Figure9. Application de l'huile essentielle formulée par *T. pallescens* et *C. citratus* par contact direct (Originale, 2018).

4.2. Evaluation de la toxicité des HEs de *T. pallescens* et *C. citratus* par inhalation

La toxicité des HEs par inhalation contre *T. confusum* et *S. zeamais* à été évaluée par rapport aux adultes des insectes selon la technique de (Abdelgaleil et *al.*, 2016). Des bocaux en verre de 1 L de volume ont été utilisés comme des chambres pour les tests de la toxicité par inhalation. Les HEs pure ont été appliquées aux papiers filtres Whatman No.1 bien attachés à la face inférieure des couvercles avec une super colle afin de prévenir la chute de ces derniers à l'intérieur des bocaux.

La face intérieure des bocaux a été brossée avec la Vaseline pour prévenir le contact direct des insectes avec les HEs. Les bouchons contenant les papiers filtres traités ont été vissés fortement sur les bocaux contenant 10 adultes de *S. zeamais* et *T. confusum* âgés de 14 jours. Le couvercle a été bien scellé avec du parafilm.

Les insectes témoins ont été maintenus dans les mêmes conditions sans les HEs. Trois répétitions de chaque traitement ont été mises en place. Tous les insectes traités et non traités ont été maintenu à 25 ± 3 °C, $65 \pm 5\%$ HR et 12 :12 h lumière : obscur. Le nombre d'insectes morts est enregistré après 24 h de traitement, pendant 4 jours. Les insectes ont été considérés

Chapitre II. Matériel et méthodes

morts quand aucun mouvement n'a été enregistré. La concentration létale causant 50% de mortalité (CL₅₀) exprimée en $\mu\text{L/L}$ d'air a été calculée à partir de la concentration logarithmique des lignes de régression de la mortalité (Finney, 1971)

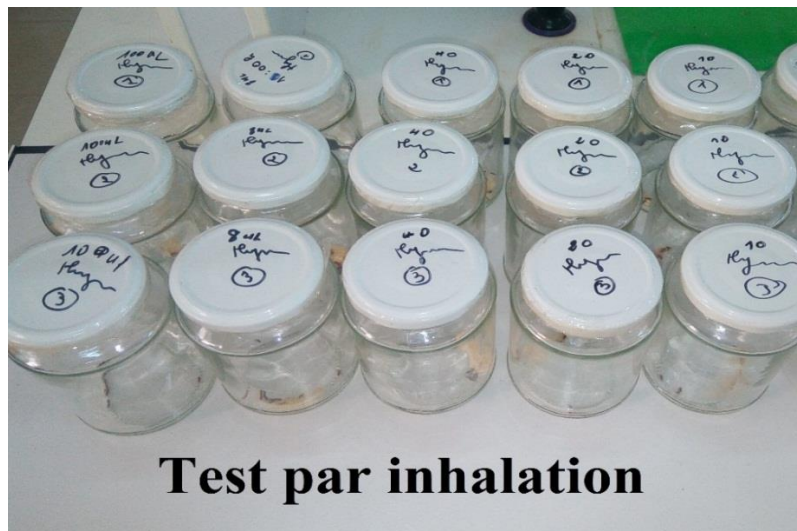


Figure 10. Application des huiles essentielles formulée de *T. pallescens* et *C. citratus* par inhalation (Originale, 2018).

5. Etude des réserves énergétiques

5.1. Quantification des protéines

Pour l'extraction et la quantification des réserves protéiques nous avons utilisé la méthode de Bradford (1976). Cette méthode est une méthode d'analyse spectroscopique utilisée pour mesurer la concentration des protéines en solution.

C'est un dosage colorimétrique basé sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à 595 nm), se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison (complexification) avec les acides aminés basiques (arginine, histidine, lysine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines.

Après le broyage des individus avec de 400 μL de la solution Tris-HCl, les échantillons sont placés à 4 °C pendant 30 minutes pour laisser le temps aux protéines de se solubiliser. La concentration en protéines dans chaque échantillon est déterminée à partir d'une gamme étalon construite en utilisant 125, 250, 500, 1000 et 2000 μg d'immunoglobuline G bovine (IgG) dissoute dans le même tampon que les échantillons. Avant la lecture, les plaques sont délicatement remuées pendant 5 secondes pour séparer les agrégats de protéines. La concentration en protéines est déterminée par spectrophotométrie à 750 nm.

Dosage des protéines

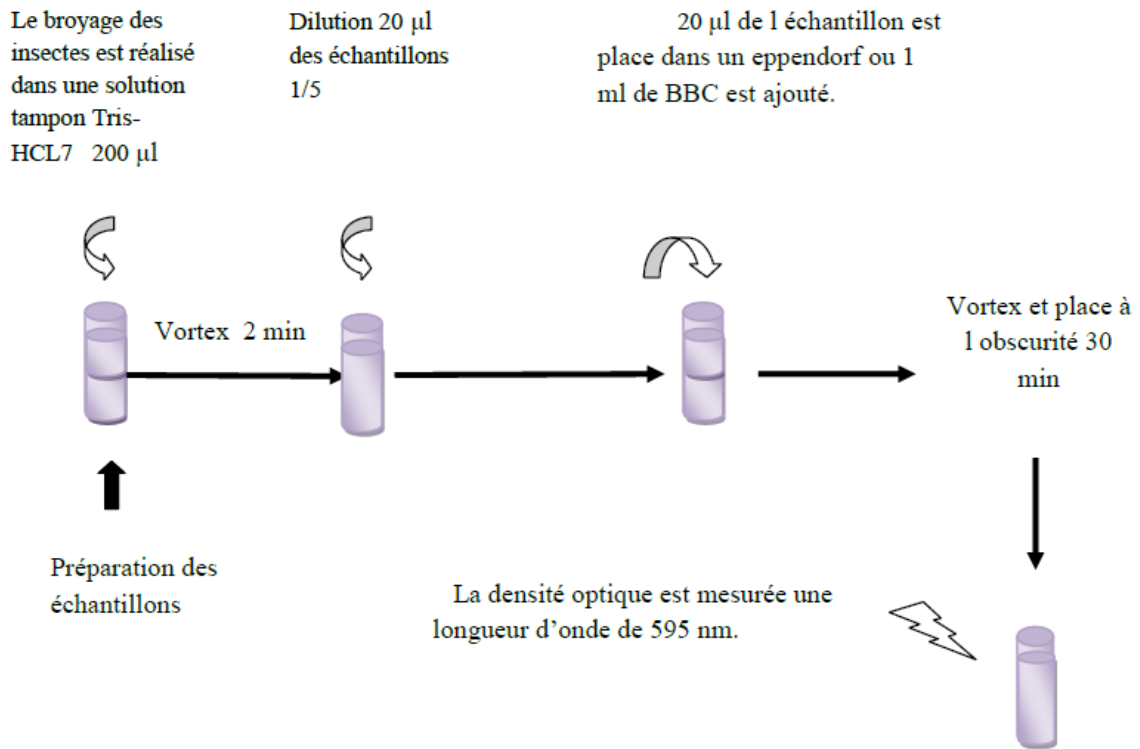


Figure 11. Schéma récapitulatif représente le dosage des protéines selon la technique de Bradford (1976).

5.2 Quantification des lipides

Au cours de ces dosages, la quantité de lipides, de glycogène et de sucres libres est déterminée de façon individuelle, le dosage est basé sur les protocoles suivants qui sont une adaptation des méthodes de Van Handel (1985a, b) et (Plaistow *et al.*, 2003).

Le broyage des insectes est réalisé dans 800 µl de méthanol pour 2 minutes. Chaque échantillon ainsi homogénéisé est divisé en deux volumes identiques (A et B) consacrés respectivement au dosage des lipides et à celui des sucres libres et du glycogène.

Une gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de lipides (2.5mg/ml) comme standard. Pour les glucides, une gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de glucose (1g/l) comme standard. Les protocoles d'extraction et de dosage des lipides et glucides sont illustrés respectivement.

L'analyse des lipides est déterminée en suivant le procédé de dosage à partir de vanilline utilisé par Van Handel (1985a). Le surnageant de chaque tube est transféré dans un

tube propre (16 × 100 mm). 200 µl de chloroforme ont été ajoutés à ce dernier, vortex puis placée à 4°C pendant 20 min. Un volume de 100 µl de cette solution a été transféré dans des tubes en pyrex les tubes sont ensuite placés sous sorbonne dans un bain sec chauffant à 95 °C permettant au solvant restant de s'évaporer. Deux-cent microlitres d'acide sulfurique concentré à 95% sont ajoutés à chaque tube et laissés 10 minutes à 95 °C.

Les tubes sont ensuite retirés du bain chauffant et après quelques minutes de refroidissement, 5 ml d'une solution d'acide vanilline-phosphorique sont ajoutés dans chaque tube. Les tubes sont ensuite vortex et laissés reposés pendant 5 minutes à l'air libre pour permettre à la coloration de se développer. 100 µl de chaque échantillon sont déposés dans des puits sur une microplaque. La densité optique dans chaque puits est lue après 25 minutes à 525 nm. La concentration en lipides dans chaque échantillon est déterminée à partir d'une gamme étalon construite en utilisant 16.5, 32, 63, 125, 250 et 500 µg d'huile végétale commerciale.

Dosage des lipides

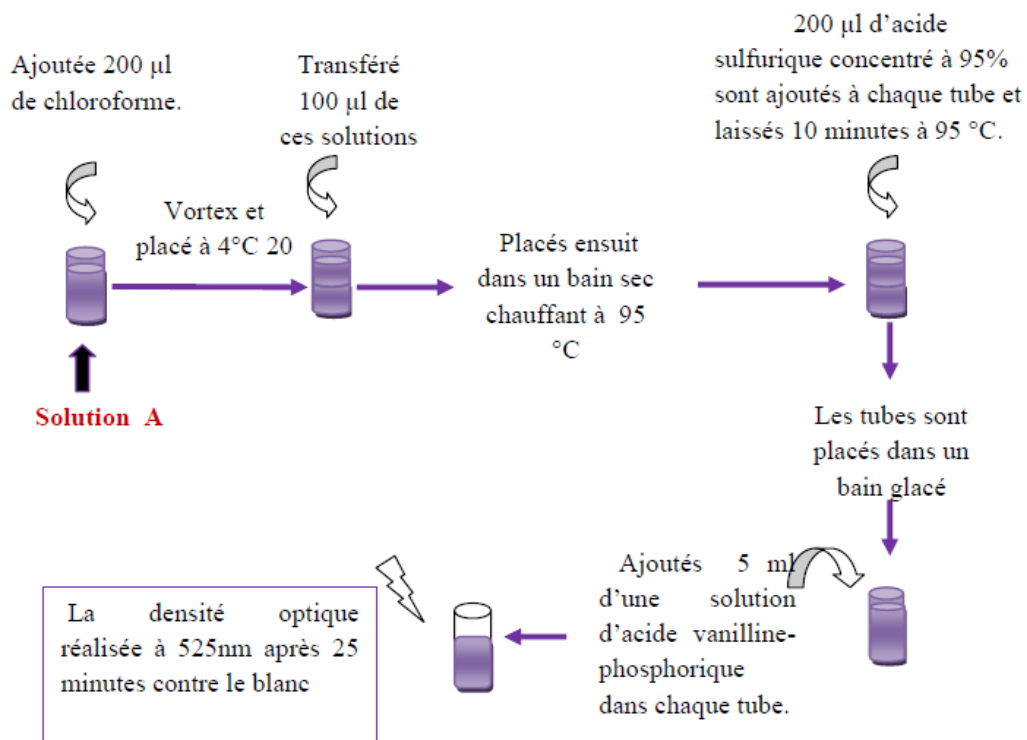


Figure 12. Schéma récapitulatif qui représente le dosage des lipides selon la technique de van Handel (1985 a, b)

5.3. Quantification des glucides

Pour l'extraction et la quantification des réserves glucidiques nous avons utilisé la méthode de (Plaistow *et al.*, 2003). 200 µl de sulfate de sodium (2 %) a été ajoutée dans la solution afin de séparer les deux types des sucres, placés en suit à 4°C pendant 20 min. les tubes contenant l'homogénéisât sont ensuite centrifugés à 4°C pendant 4 min a 2000 g. Les surnageant sont récupérés et additionnés par 400 µl d'eau distillé et après en les surnageant sont récupérés et additionnés au phénol à 5% et 1 ml de H₂SO₄. Des derniers ont été disposés dans un bain marie régler à 95 °C pendant 17 min. Les tubes sont placés par la suite dans un bain glacé à 10 min afin d'arrêter la réaction puis la lecture de la densité optique à 630nm. Le blanc est obtenu à partir d'une solution mère de glucose à 0,5mg/ml (5mg de glucose dans 10ml d'eau distillée), dont on effectue une série de dilutions afin d'obtenir les concentrations suivantes de glucose : 0.5, 0.25, 0.12, 0.062, 0.031, 0.016 et 0.0078 mg/ml.

Dosage des glucides

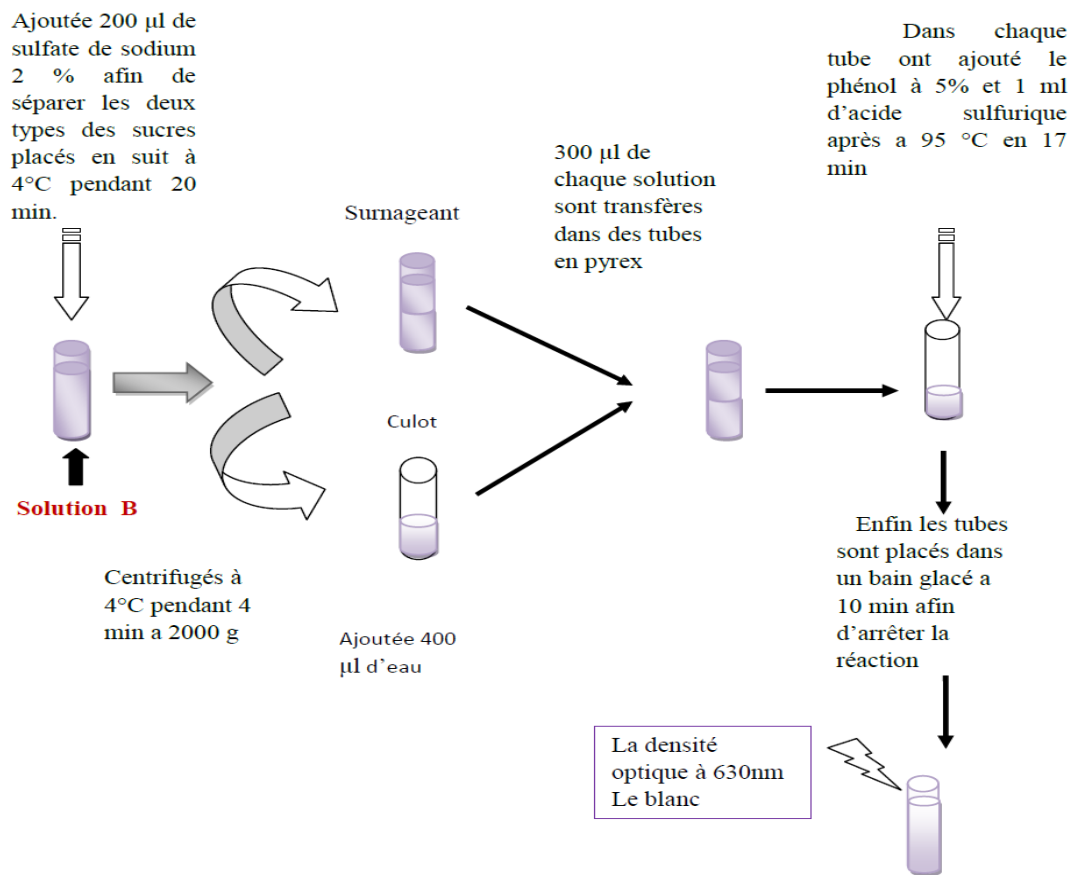


Figure 13. Schéma récapitulatif qui représente le dosage des glucides selon la technique Plaistow *et al.*, (2003)

6. Expression des résultats

6.1. Contrôle de la mortalité

L'efficacité des huiles essentielles et de l'insecticide conventionnel ont été évaluées par le taux de mortalité provoqué dans la population traitée. Les taux de mortalité des adultes témoins et traités sont calculés par la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité} = \frac{\text{nombre de morts}}{\text{nombre total}} \times 100$$

6.1.1. Correction de la mortalité

Les taux mortalités (M) ont été exprimés selon la formule d'Abbott (1925) en mortalités corrigées (Mc), tenant compte des mortalités naturelles observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante :

$$\text{MC\%} = ((M - M_t) * 100) / (100 - M_t)$$

Mc : la mortalité corrigée.

M : pourcentage de morts dans la population traitée.

Mt : pourcentage de morts dans la population témoin

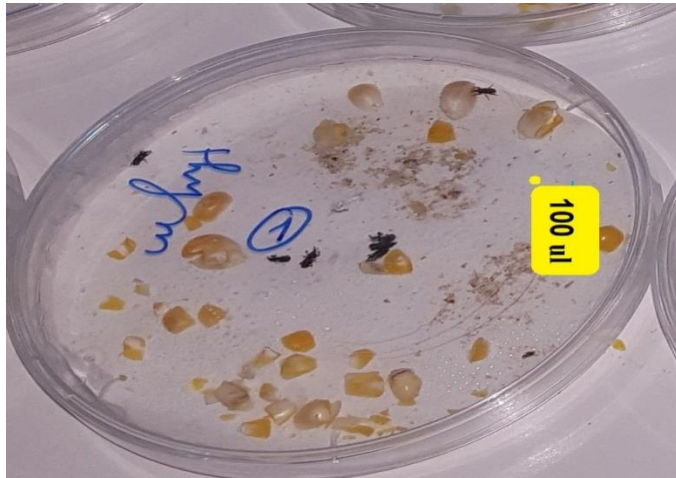


Figure 14. Boîte de pétri contenant des insectes morts après 24h d'exposition au traitement (Originale, 2018).

6.2. Détermination de la DL₅₀

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL₅₀ qui représente la dose conduisant à la mort de 50% des individus d'un même lot. La méthode de Finney (1971) basée sur la régression des probités des mortalités en fonction des logarithmes des doses d'HE a permis de déterminer la DL₅₀.

7. Analyses statistiques

Pour estimer les effets insecticides des HEs, une analyse de la variance (ANOVA) avec deux critères de classification a été effectuée avec le nombre d'insectes morts en fonction des concentrations et du temps à l'aide du logiciel Statistique version 8.0. La comparaison des moyennes de différentes huiles essentielles a été effectuée par le test de Newman et Keuls.

Les données ont été analysées en utilisant une analyse de la variance (ANOVA) avec deux critères de classification, en utilisant aussi le logiciel XLSTAT.

1. Résultats

1.1. Rendement en huile essentielle des deux plantes étudiées

Les feuilles des deux plantes aromatiques testées renferment des HEs, mais des rendements varient d'une plante à une autre. *T. pallescens* possède le rendement le plus élevé en HEs environ 3.31% comparées avec *C. citratus* qui à montrer un rendement environ 0.98%.

1.2. Effet toxique des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* sur les adultes de *T. confusum* et *S. zeamais*

Les formulations des HEs à base de *T. pallescens* et *C. citratus* ont été évaluées à différentes doses 10, 20, 40, 80 et 100µL pour leur pouvoir insecticide contre deux ravageurs des denrées stockées à savoir *S. zeamais* ravageur de maïs ainsi que *T. confusum* nuisible de blé tendre.

Tableau 1. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées *T. pallescens* et *C. citratus* sur les populations de *S. zeamais* et *T. confusum*. Les **, *** indiquent une différence significative entre les moyennes à $P < 0.01$ et $P < 0.001$.

| | Source | SS | DDL | MS | F-Ratio | P |
|---|-------------------------|----------|-----|----------|---------|----------|
| 1 | Espèce d'insecte | 853 | 1 | 853 | 3.7 | 0.055** |
| 2 | Technique d'application | 1.05E+04 | 1 | 1.05E+04 | 45.3 | .000*** |
| 3 | Huile essentielle | 4.60E+04 | 1 | 4.60E+04 | 199.5 | 0.000*** |
| 4 | Temps | 4.74E+04 | 3 | 1.58E+04 | 68.5 | 0.000*** |
| 5 | Dose | 1.53E+05 | 4 | 3.83E+04 | 165.9 | 0.000*** |

Les résultats obtenus montrent que les deux formulations ont manifestées des effets insecticides très remarquable sur la population des deux ravageurs, dont l'intensité de la mortalité corrigée varie selon le type de l'huile, le ravageur cible, la dose appliquée le temps d'exposition.

L'analyse des données par le modèle G.L.M à mis en évidence un effet très hautement significatif de l'espèce végétale ($p=0.000$), l'espèce de ravageur, le mode d'emploi, la dose et le temps d'exposition ainsi que l'interaction entre ces facteurs sur les populations des ravageurs traitées.

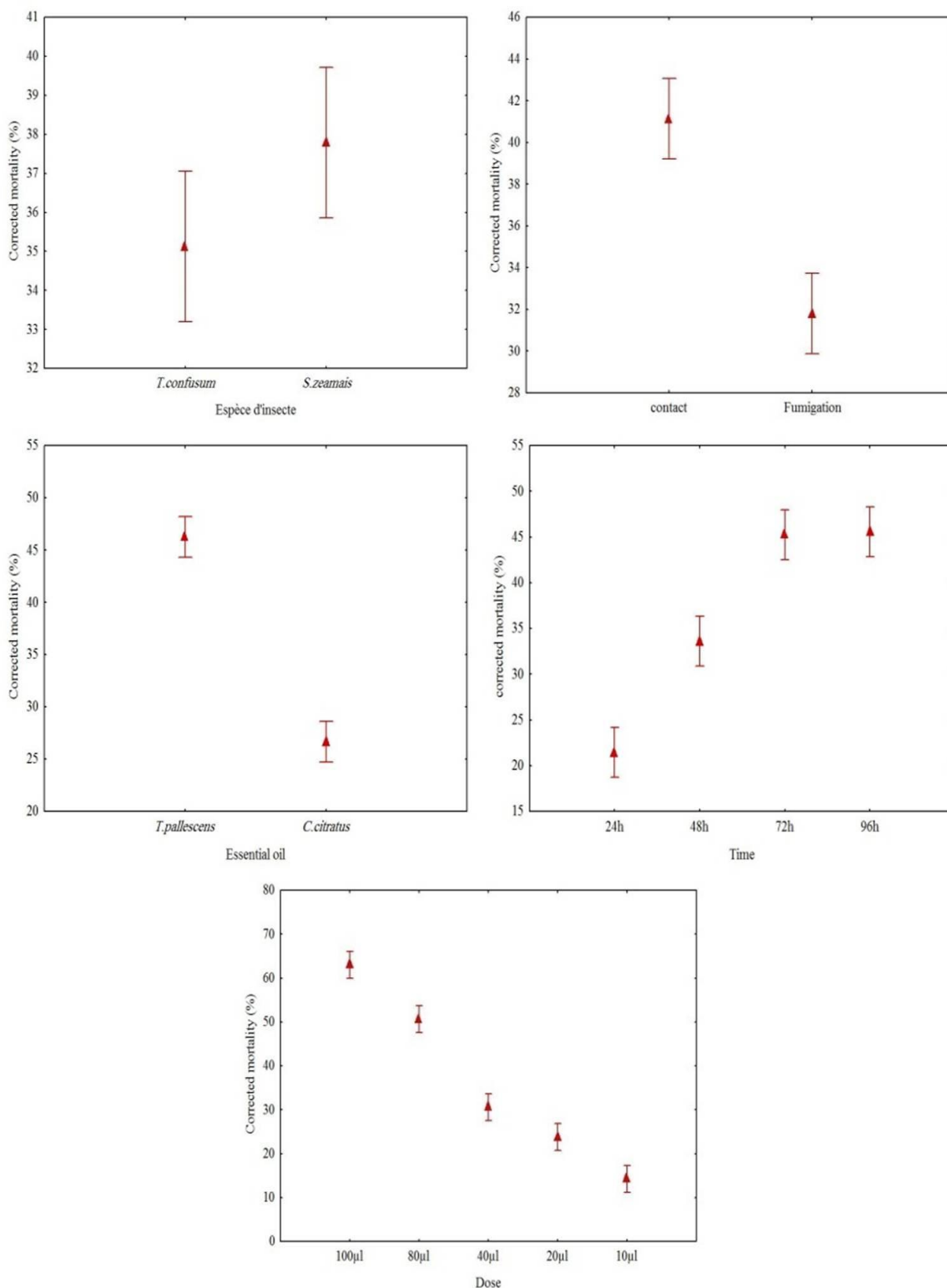


Figure 15. Effet comparé de l'espèce d'insecte, la méthode d'application, l'huile essentielle, le temps et la dose sur le taux de mortalité corrigée chez les individus de *S. zeamais* et *T. confusum* traités par les différentes concentrations des HEs de *T. pallescens* et *C. citratus*.

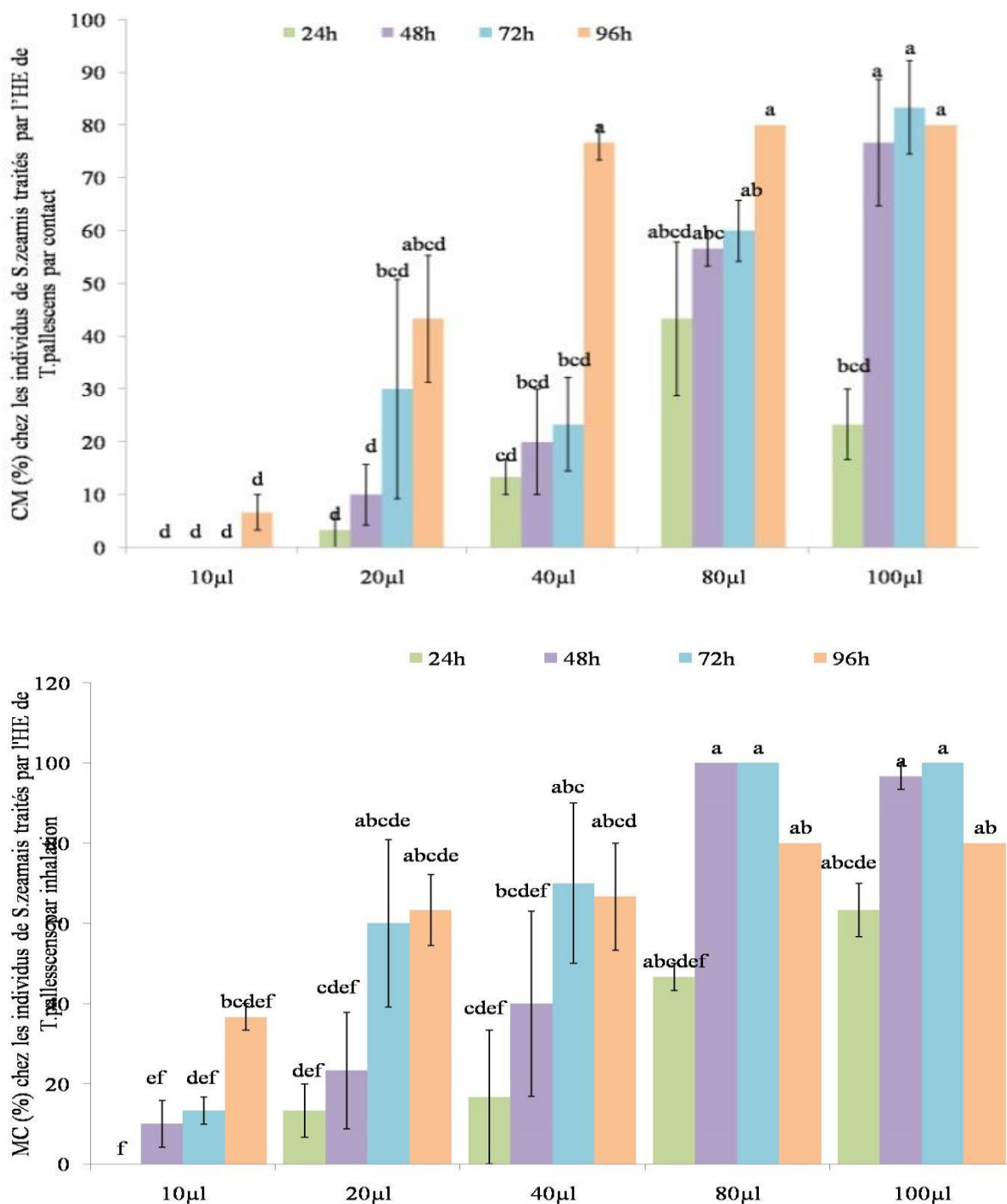


Figure 16. Variation des taux de la mortalité corrigée chez les adultes de *S. zeamais* exposés à différentes doses des formulations l’huile essentielle de *T. pallidus* par contact et par inhalation. les résultats représente la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

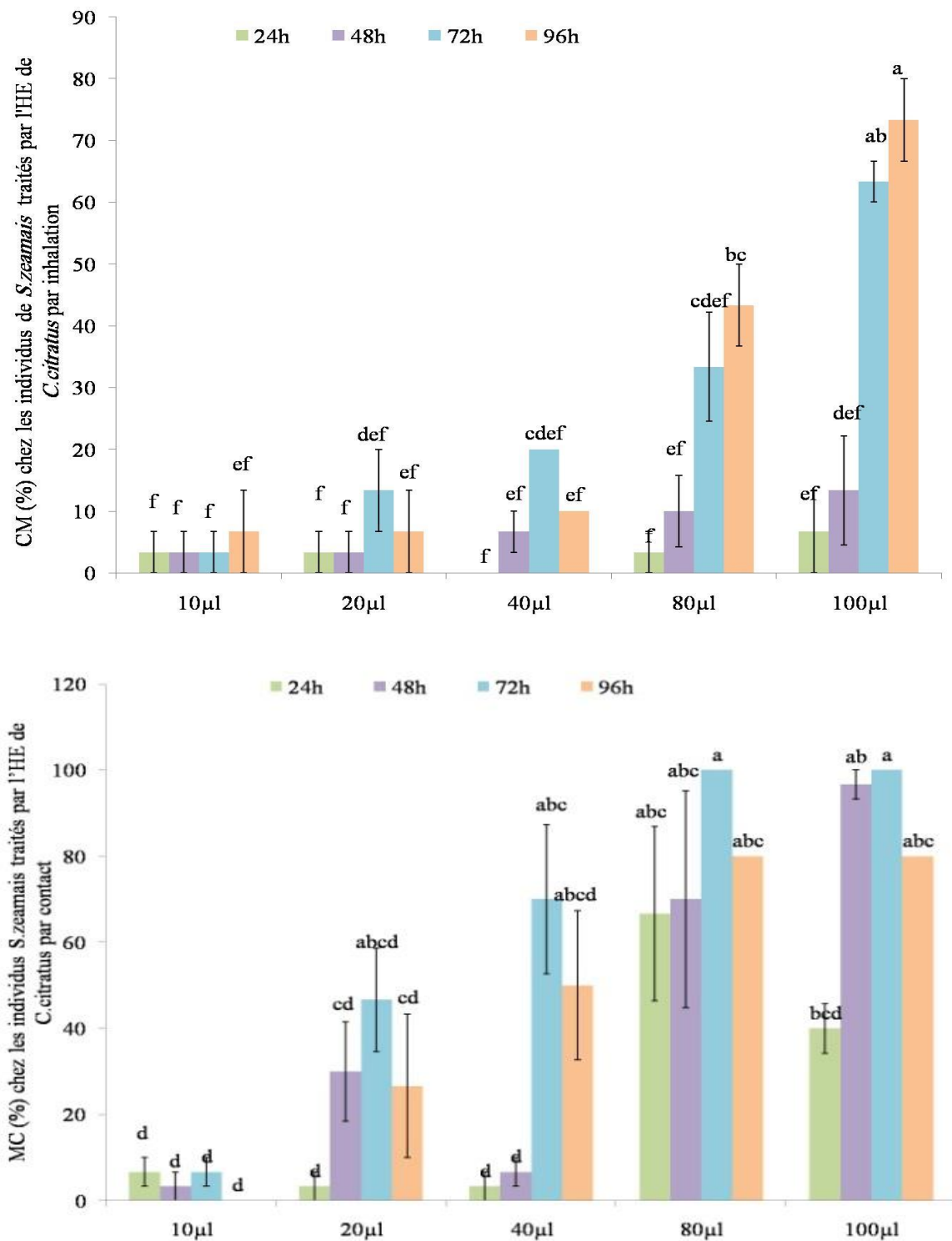


Figure 17. Variation des taux de la mortalité corrigée chez les adultes de *S. zeamais* exposés à différentes doses des formulations l’huile essentielle de *C. citratus* par contact et par inhalation. les résultats représente la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b, ... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

1.2.1. Effet toxique des HEs de *T. pallescens* et *C. citratus* sur les adultes de *S. zeamais*.

1.2.1.1. Test par contact

Les formulations des HEs à base de *T. pallescens* ont été analysées pour leur activité insecticide par contact et par inhalation vis-à-vis *S. zeamais*. Les résultats obtenus indiquent une activité insecticide très prononcée de cette formulation mais avec des degrés variables, selon la dose et le temps. L'analyse de la variance ANOVA révèle une différence très hautement significative de la dose ($P = 0.000$), le temps ($P = 0.000$) et l'interaction dose x temps ($P = 0.000$).

L'huile essentielle de *T. pallescens* affecte significativement la vitalité des adultes de *S. zeamias*. En effet, la plus faible dose a provoqué environ 0% de mortalité après 24h de traitement. Cependant, elle est de 43.33% avec la dose 80 μ L. Ce taux augmente au fur et à mesure l'augmentation de la dose et le temps d'exposition. Les résultats obtenus après 96h dénuent également 80% de mortalité avec les concentrations de 80 et 100 μ L et 76.67% avec la concentration 40 μ L.

L'examen des expériences effectuées indique la toxicité des formulations en HEs à base de *C. citratus* à différentes concentrations sur le taux de mortalité du *S. zeamais*. En général, l'effet insecticide a exposé différente intensité mais il est moins prononcé comparé avec l'effet de la formulation à base de l'HE de *T. pallescens*. L'analyse de la variance effectuée sur le taux de Mc révèle une différence très hautement significative de la dose ($P = 0.000$) et le temps ($P = 0.000$) et significative de l'interaction dose-temps ($P = 0.04$).

La figure indique que la Mc provoquée par la formulation de *C. citratus* vis-à-vis *S. zeamais* est de l'ordre de 6.67 % et 66.67% après 24 h avec les concentrations 10 et 80 μ L, respectivement. Cependant, le taux de Mc augmente significativement avec l'augmentation de la dose et le temps d'exposition. La Mt a été atteinte après 72h d'exposition des adultes de *S. zeamais* aux formulations de *C. citratus* avec la concentration 100 μ L. Cependant, après 96h de traitement les formulations ont provoqué une Mt avec la dose 80 μ L et 50% de mortalité avec la concentration 40 μ L.

1.2.1.2. Test par inhalation

Dans le but de tester l'effet des deux traitements étudiés (temps et la concentration) ainsi que celui de l'interaction entre ces deux facteurs sur la variation du taux de mortalité ; nous avons réalisé une analyse de la variance (ANOVA) qui est composée par deux facteurs. Les résultats de test de probabilité. L'analyse de la variance a révélé une variation très

hautement significative de la dose ($P = 0.000$), du temps ($P = 0.000$) et significative de l'interaction dose- temps ($P = 0.000$).

A cet effet, l'HE formulée de *T. pallescens* a entraîné une mortalité environ 13.33% et 63.33% avec les concentrations 20 et 100 μL après 24h d'exposition, respectivement. Par ailleurs, les résultats obtenus indiquent une augmentation avec le temps est la mortalité des adultes de *S. zeamais* a atteint un taux de 36.67% et 80 % après 96h de traitement avec les concentrations de 10 et 100 μL de la formulation de *T. pallescens*, respectivement.

Les tests insecticides par inhalation ont révélé que la formulation de l'HE de *C. citratus* possède une activité insecticide remarquable, dont l'intensité varie en fonction la dose et le temps d'exposition. L'analyse des données affiche un effet très prononcé de la formulation de *T. pallescens* comparée avec celle de la *Citronnelle*. L'analyse de la variance à deux facteurs de classification révèle une différence très hautement significative de la dose le temps ($P = 0.000$) et l'interaction entre les deux.

A cet effet, l'emploi de l'HE de *C. citratus* contre *S. zeamais* a permis de provoquée une Mc remarquable comparativement aux témoins non traités. Le taux de Mc provoqué par cette formulation est avéré dose dépendante. La lecture de données affichées sur la figure montre un taux de mortalité qui varie entre 3.33 à 6.67% pour toutes les concentrations. Cependant, le taux de mortalité devient de plus en plus remarquable avec le temps et devient variables entre 6.67 et 73.33% après 96h d'exposition.

1.2.3. Effet toxique des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* sur les adultes de *T. confusum*

1.2.3.1. Test par contact

L'HE de *Thym* a également constaté très efficace contre *T. confusum*. Toutes les concentrations utilisées réduisent de façon significative la population de cette espèce ravageuse. L'analyse de la variance à deux facteurs de classification révèle une différence très hautement significative de la dose et non significative pour les facteurs temps et l'interaction entre les deux.

Les résultats affichés dans la figure exposent également un effet insecticide très remarquable de la formulation de *T. pallescens* qui varie entre 20 et 66.67%. Cependant, l'effet insecticide le plus élevé a été noté après 96h d'exposition chez les individus tests à la concentration 100 μL . Par ailleurs, le plus faible effet a été remarqué chez les individus traités avec la concentration 20 μL après 24h d'exposition.

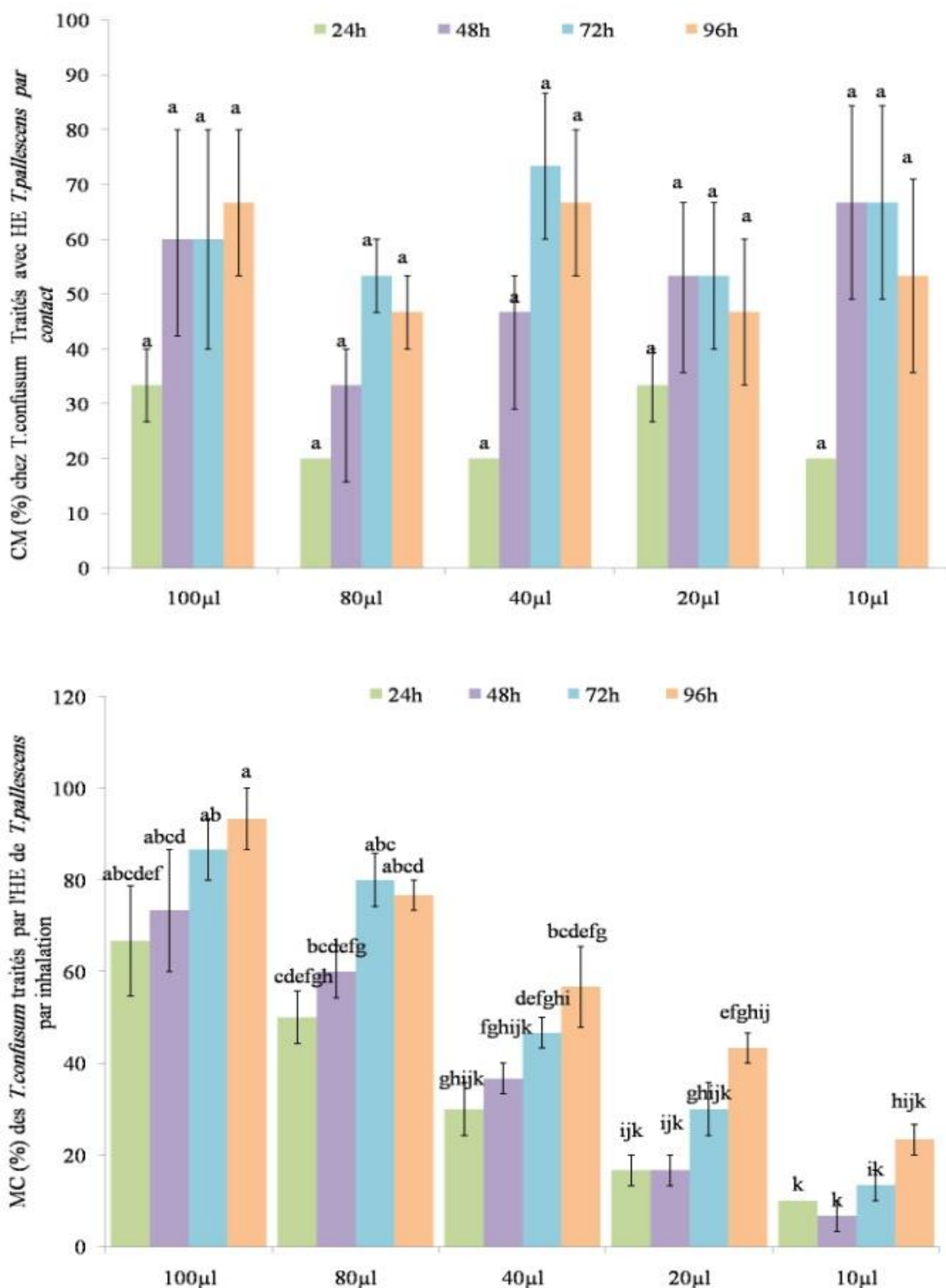


Figure 18. Variation des taux de la mortalité corrigée chez les adultes de *T. confusum* exposés à différentes doses des formulations de l'huile essentielle de *T. pallescens* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

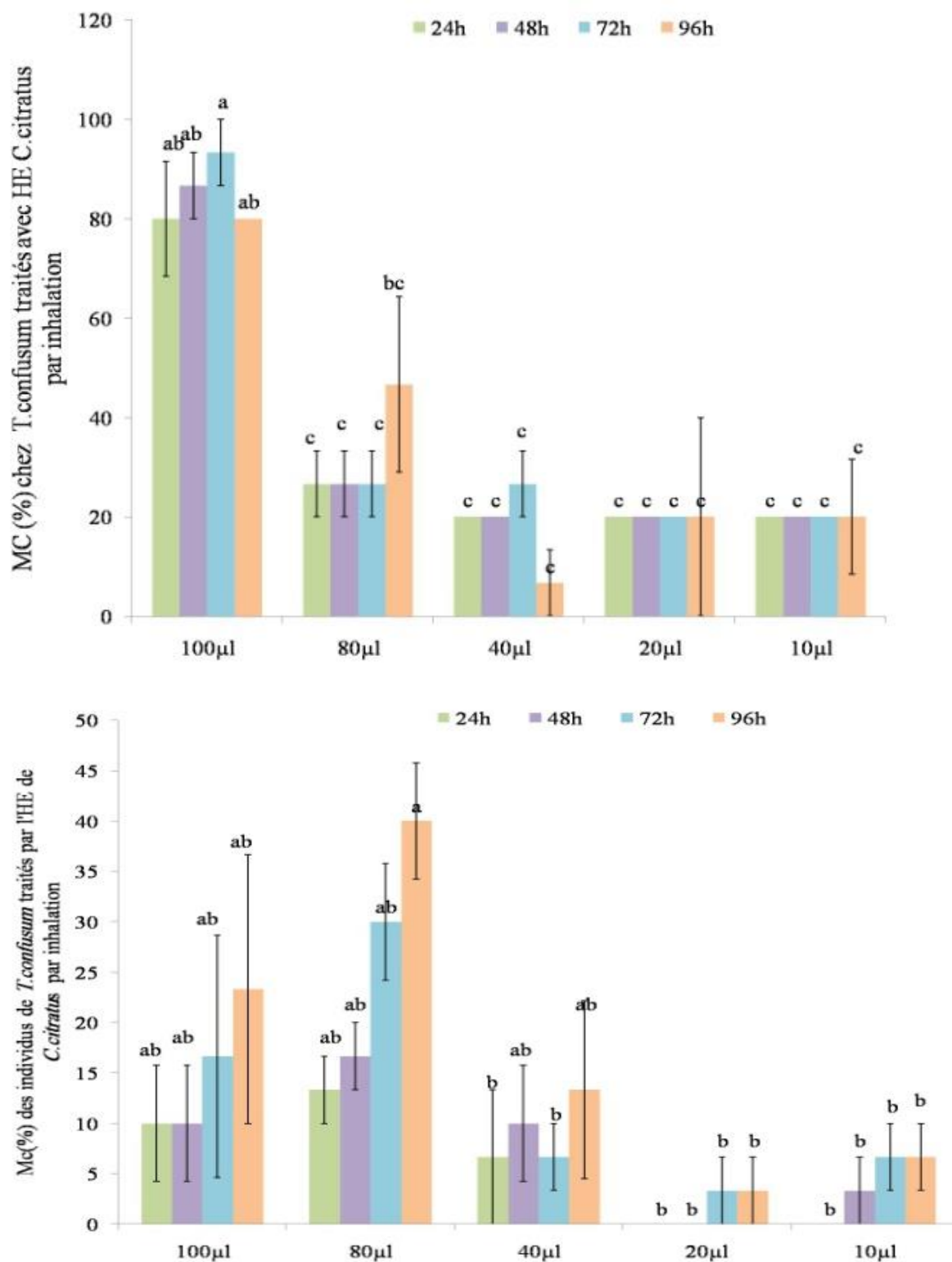


Figure 19. Variation des taux de la mortalité corrigée chez les adultes de *T. confusum* exposés à différentes doses des formulations de l'huile essentielle de *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

La formulation de l'HE de *C. citratus* présente une activité insecticide notable contre *T. confusum* mais moins prononcée en comparaison avec celle de *Thym*. Selon l'ANOVA, la dose expose un effet hautement significatif. Cependant, le temps et l'interaction entre les deux facteurs ont exposés un effet non significatif.

L'analyse des données affichées sur la figure indiquent un effet marquant avec la concentration 100µL, où nous avons constaté une mortalité corrigée environ 80% après 24h de traitement. Par contre, cette formulation est avérée faiblement efficace pour les doses 40, 20 et 10µL, dont le taux de Mc est variable entre 6.67 et 20%.

1.2.3.2. Test par inhalation

D'après l'ANOVA, la dose et le temps ont montré une différence hautement significative ($P = 0.8791$). Autrement, l'interaction entre les deux a exposée un effet non significatif. Ce dernier effet a été expliqué par la séparation très nette des différents groupes homogènes des deux facteurs étudiés.

À cet effet, la formulation de l'HE de *T. pallescens* a été révélée fortement efficace pour contrôler *T. confusum*. La lecture des résultats suggère une efficacité qui varie entre 10 et 66.67% de Mc après 24h de traitement. Par ailleurs, l'efficacité augmente au fur et à mesure l'augmentation de la dose et le temps d'exposition. A ce titre, une Mc qui s'étale entre 23.33 et 93.33% a été obtenue après 96h de traitement avec les concentrations de 10 et 100µL, respectivement.

L'examen des études effectuées par les formulations à base de l'HE de *C. citratus* indique une efficacité plus au moins intéressante vis-à-vis *T. confusum*. L'analyse de la variance présente une différence très hautement significative des facteurs dose et temps ($P = 0.8020$). Cependant, aucune différence significative n'est observée pour l'effet conjugué des deux facteurs.

L'effet par inhalation d'HE de *C. citratus* sur *T. confusum* a enregistré des mortalités inférieures à 40% à la dose 80µL, tandis que, les doses 40, 20 et 10µL ont montrés une mortalité très faible qui s'étale entre 13.33, 3.33 et 6.67% après 96h de traitement.

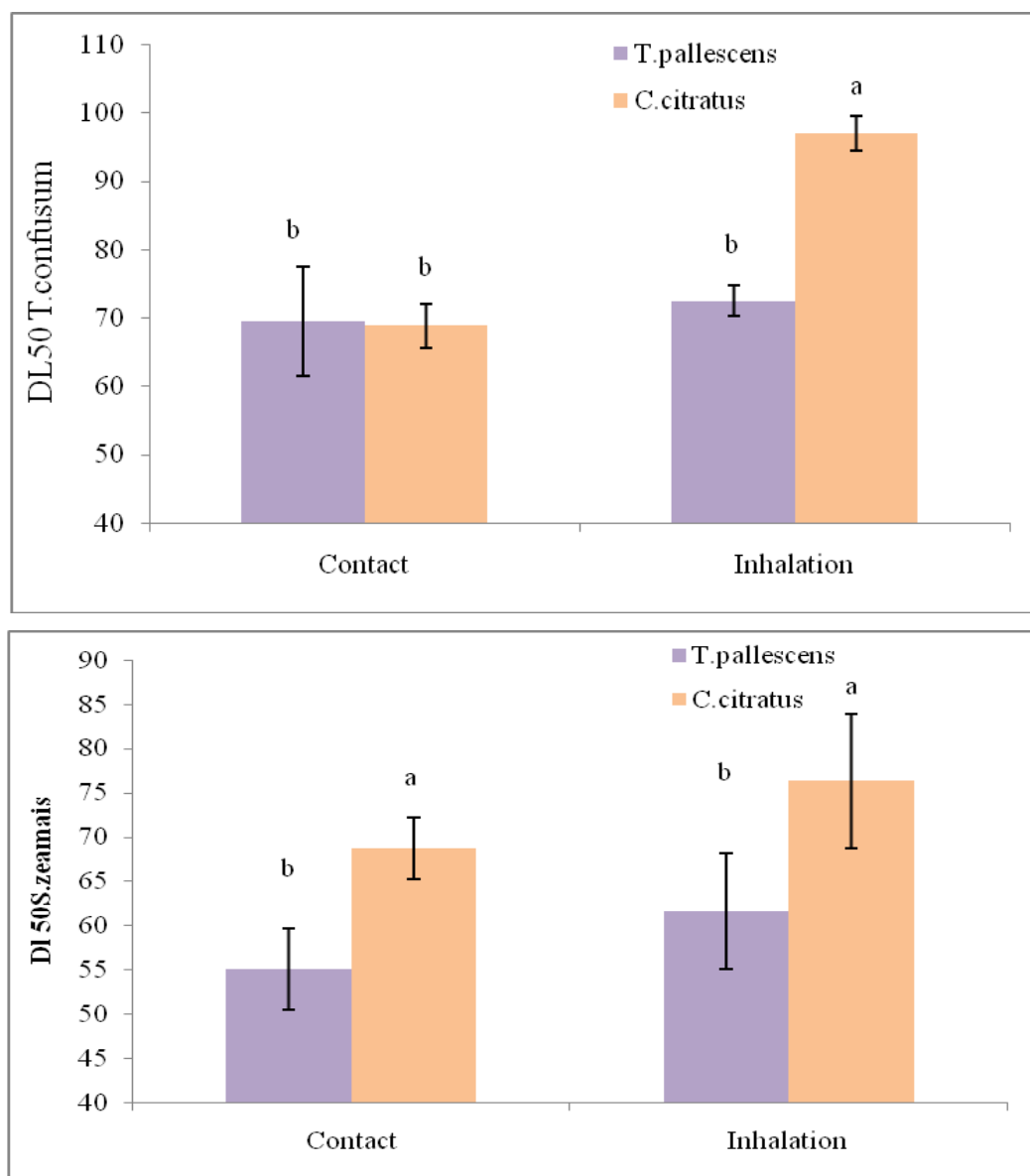


Figure 20. Résultats de la DL₅₀ des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation sur les adultes de *S. zeamais* et *T. confusum*. Les résultats représentent la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b...indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

1.3. Détermination de la DL₅₀ par contact et par inhalation des huiles essentielles étudiées

La dose létale pour 50% de la population d'insectes est calculée par la méthode des probités (Finney, 1971), pour la comparaison de la toxicité des HEs testées. Les pourcentages de mortalité sont transformés en probités, la régression du logarithme de la dose en fonction des probités des mortalités à l'aide de logiciel XLSTAT a permis de déterminer la DL₅₀ pour chaque huile essentielle à tester.

Chapitre III. Résultats et discussion

L'analyse des résultats obtenus indiquent que le *T. pallescens* est plus efficace par contact contre *S. zeamais* avec une DL₅₀ de 55.08 µL par rapport à celle déterminée par inhalation 61.67 µL. Cependant, l'HE de *C. citratus* montrent une valeur supérieure de la DL₅₀ (68.67) par contact et une valeur supérieure par inhalation avec une DL₅₀ de 76.33 µL. Du ce fait, on constate que les deux HES formulées du *T. pallescens* et de *C. citratus* agissent mieux par contact que par inhalation vis-à-vis le ravageur *S. zeamais*.

Pour *T. confusum*, l'examen des valeurs des DL₅₀ de l'HE du *T. pallescens*, montre que la voie la plus efficace est celle par contact avec une DL₅₀ environ 69.50 par rapport à celle déterminée par inhalation 72.50 µL. Par ailleurs, la DL₅₀ estimée pour l'huile essentielle de *C. citratus* est de 68.83 µL par contact et 97.03 µL par inhalation (Tableau 3). Du ce fait, les deux HES formulées du *T. pallescens* et de *C. citratus* agissent mieux par contact que par inhalation vis-à-vis *T. confusum*.

Tableau 2. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées *T. pallescens* et *C. citratus* sur les teneurs énergétiques des populations de *S. zeamais* et *T. confusum*. Les **, *** indiquent une différence significative entre les moyennes à P < 0.01 et P < 0.001.

| | Source | SS | DDL | MS | F-ration | P |
|-----------|-------------------------|-------|-----|-------|----------|----------|
| Protéines | Espèce d'insecte | 9.7 | 1 | 9.67 | 23.00 | 0.000*** |
| | Huile essentielle | 8.9 | 1 | 8.92 | 21.30 | 0.000*** |
| | Dose | 170.6 | 2 | 85.31 | 203.20 | 0.000*** |
| | Technique d'application | 97.6 | 1 | 97.59 | 232.40 | 0.000*** |
| Glucides | Espèce d'insecte | 499 | 1 | 499 | 12.85 | 0.001** |
| | Huile essentielle | 483 | 1 | 483 | 12.41 | 0.001** |
| | Dose | 417 | 2 | 209 | 5.37 | 0.008** |
| | Technique d'application | 315 | 1 | 315 | 8.10 | 0.006** |
| Lipides | Espèce d'insecte | 0.245 | 1 | 0.245 | 617.00 | 0.000*** |
| | Huile essentielle | 1.756 | 1 | 1.756 | 4422.00 | 0.000*** |
| | Dose | 0.043 | 2 | 0.022 | 55.00 | 0.000*** |
| | Technique d'application | 0.54 | 1 | 0.54 | 1359.00 | 0.000*** |

Chapitre III. Résultats et discussion

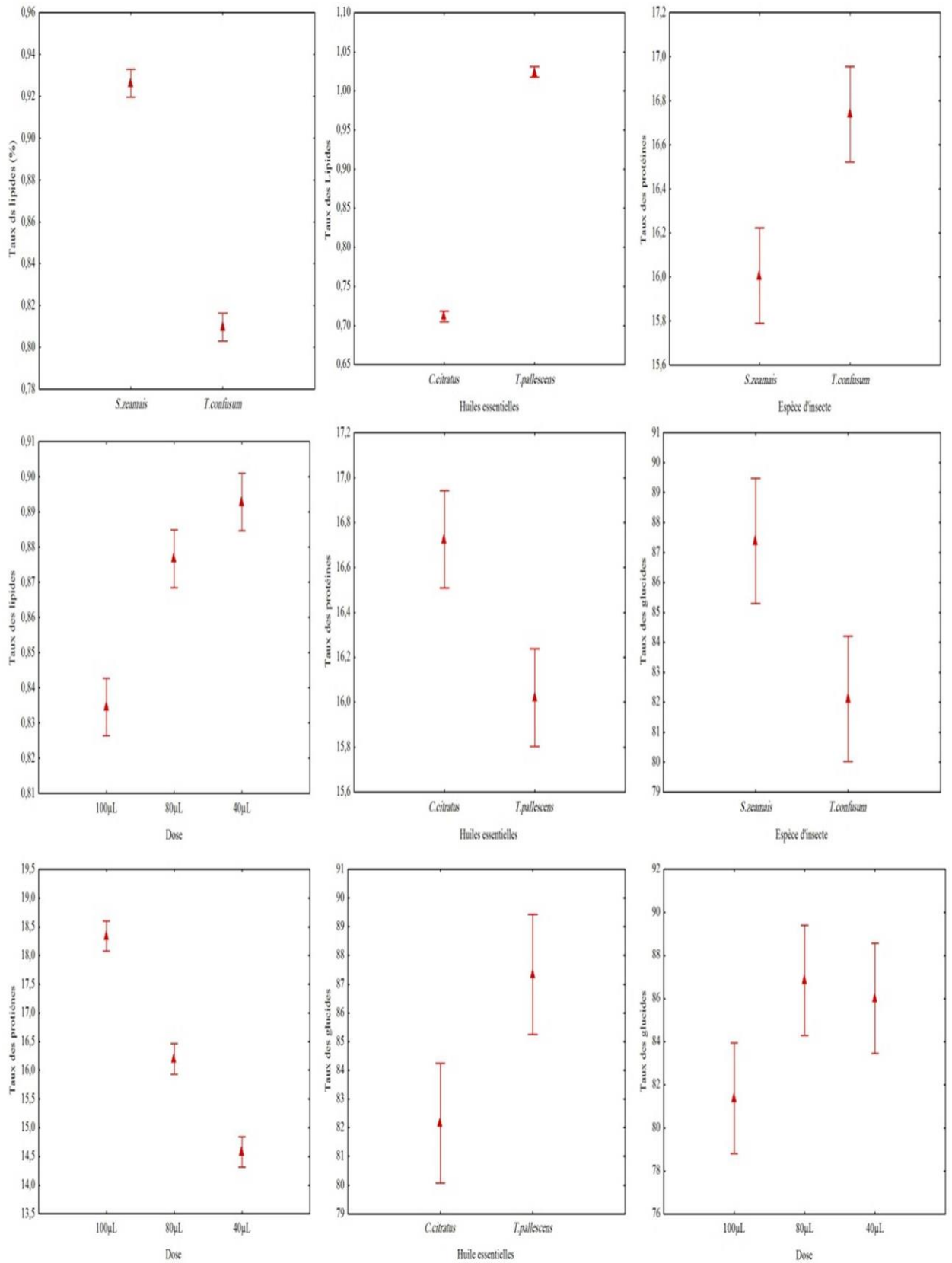


Figure 21. Effet comparé de l'espèce d'insecte, l'huile essentielle et la dose sur le taux des protéines, des lipides et des glucides chez les individus de *S. zeamais* et *T. confusum* traités par les différentes concentrations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*.

3.1 Variation quantitative des réserves énergétiques chez les adultes de *S. zeamais* et *T. confusum* traités par les HEs de *T. pallescens* et *C. citratus*

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M) pour l'étude des teneurs des biomarqueurs énergétiques (glucides, lipides et protéines) pour les deux ravageurs traités avec l'huile essentielles de *T. pallescens* ainsi que de *C. citratus*.

L'ensemble des résultats d'analyses est présenté dans le (tableau 3). Le tableau ci-dessus (Tableau 3) ainsi que la figure ci-dessous (figure 19), indiquent que les analyses l'ANOVA révèlent l'existence d'une différence très hautement significative sur la variabilité des taux des réserves énergétiques (Tableau 3) L'analyse des données affichées sur le tableau explique également un effet hautement significatif de l'espèce d'insecte, la dose et le type de l'huile sur les teneurs en glucide, protéines et lipides.

Les teneurs glucidiques chez les individus de *S. zeamais* traités avec les formulations de l'huile essentielle de *T. pallescens* et *C. citratus* ont nettement augmentés à bout de huit jours d'exposition aux effets des matières actives. L'analyse des résultats expose également une augmentation importante des teneurs en glucides chez les individus traités avec la formulation de *C. citratus* comparés avec ceux traités par les formulations des de *T. pallescens*. Une augmentation environ 38.52% a été constatée chez les individus de *S. zeamais* traités avec l'huile de *C. citratus* à la concentration 100 μ L, alors qu'elle est environ 0.05% chez les individus traités avec la formulation de *T. pallescens*. La seule exception a été notée chez les individus traités avec la concertation 40 μ L de la formulation de *T. pallescens*, où une augmentation environ 4.08 % des réserves glucidiques a été constaté.

Par ailleurs, les traitements par contact de la population de *S. zeamais* par les deux formations ont enregistré une diminution des teneurs glucidiques chez les individus traités par la formulation de *T. pallescens* avec des pourcentages entre 8.17 et 12.87%. Par contre, la même population a démontré une augmentation entre 0.86 à 11.62% après leur exposition aux formulations à base à base de la *C. citratus*.

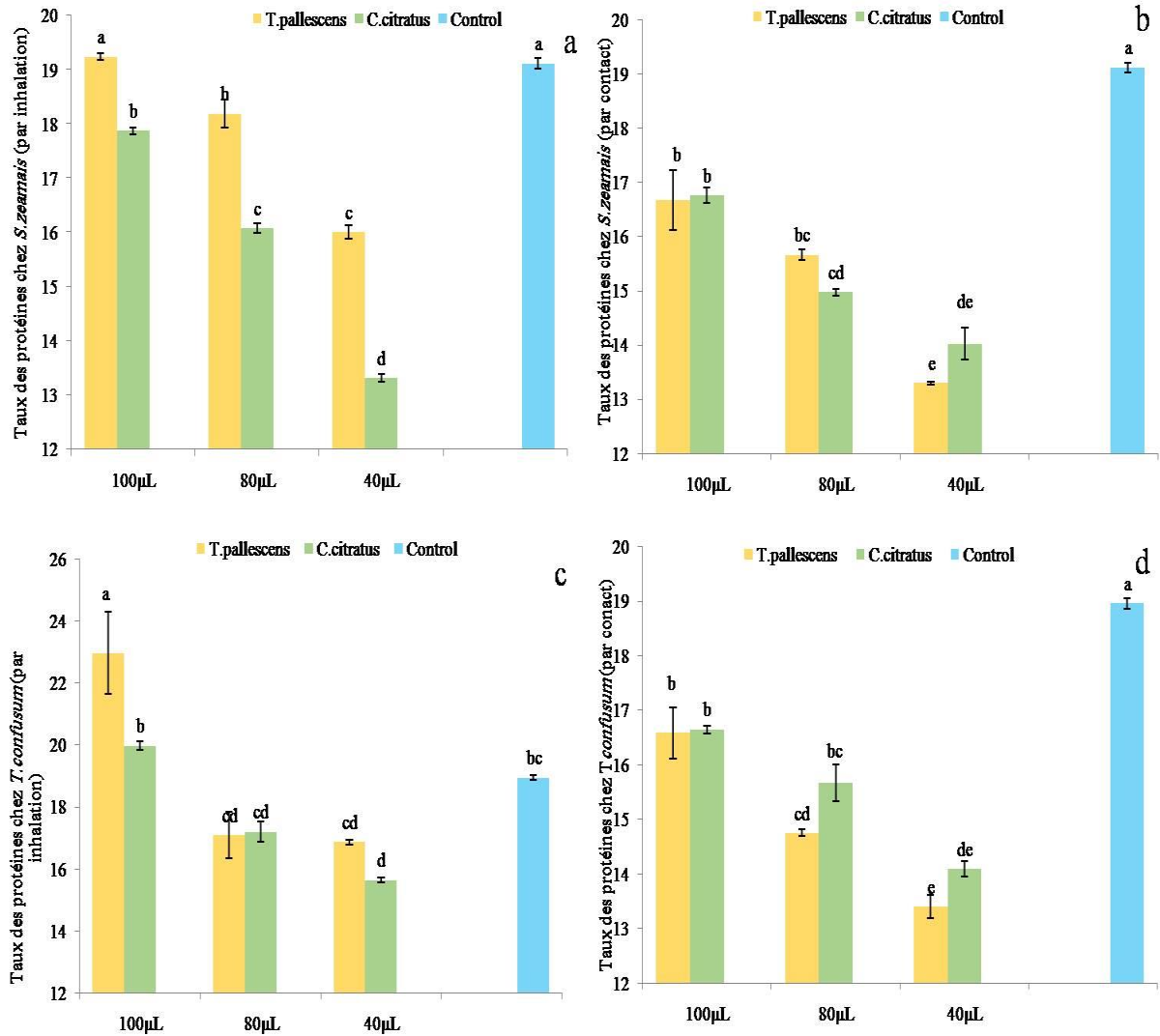


Figure 22. Variation des taux de des glucides chez les adultes de *T. confusum* et *S. zeamais* exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de *T. pallidus* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

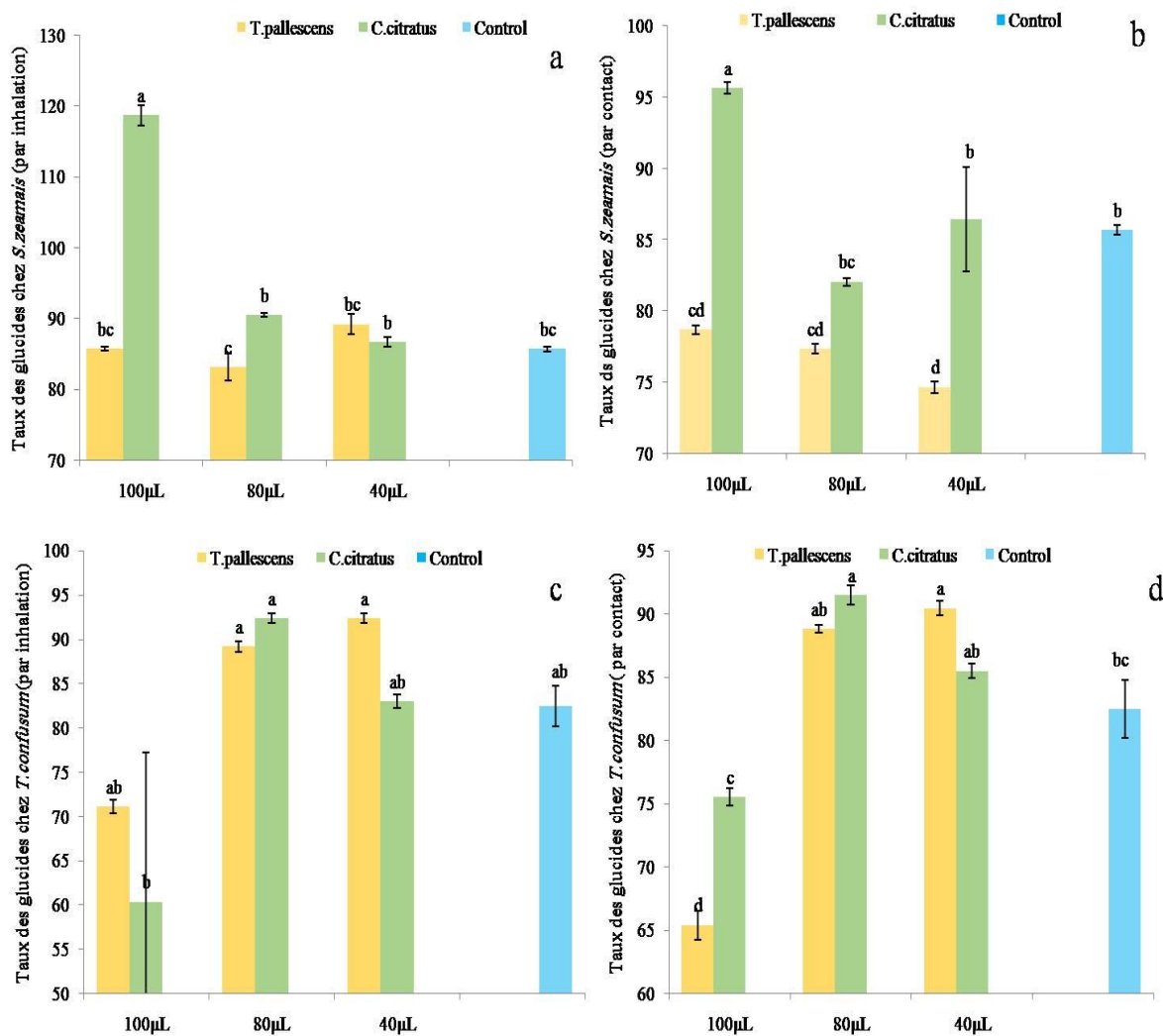


Figure 23. Variation des taux des protéines chez les adultes de *T. confusum* et *S. zeamais* exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la Moyenne± erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

Les teneurs en glucides chez la population de *T. confusum* ont présenté une diminution de l'ordre de 13.82 et 26.85% après un traitement avec les formulations de *T. pallescens* et *C. citratus* avec la concentration de 100 µL, respectivement. En revanche, le traitement des populations de *T. confusum* par ces deux formulations traduisent à une augmentation significative des teneurs glucidiques. Cette augmentation est variable entre 11.98 à 0.65% et entre 8.13 à 11.98% chez les individus traités avec les formulations de *T. pallescens* et de la *C. citratus* à la concentration 40 et 80 µL, respectivement.

L'analyse de données affichées sur la figure expose une diminution significative des teneurs en protéines chez les individus de *S. zeamais* traité avec l'HEs de *T. pallescens* et de

Chapitre III. Résultats et discussion

C. ciratus avec les concentrations de 40 et 80 μL . cette diminution est variable entre 4.85 à 16.30% et 15.88 à 30.33%. Par contre, les individus traités par la concentration de 100 μL affichent une augmentation (0.64 et 6.52 %) de teneurs en protéines.

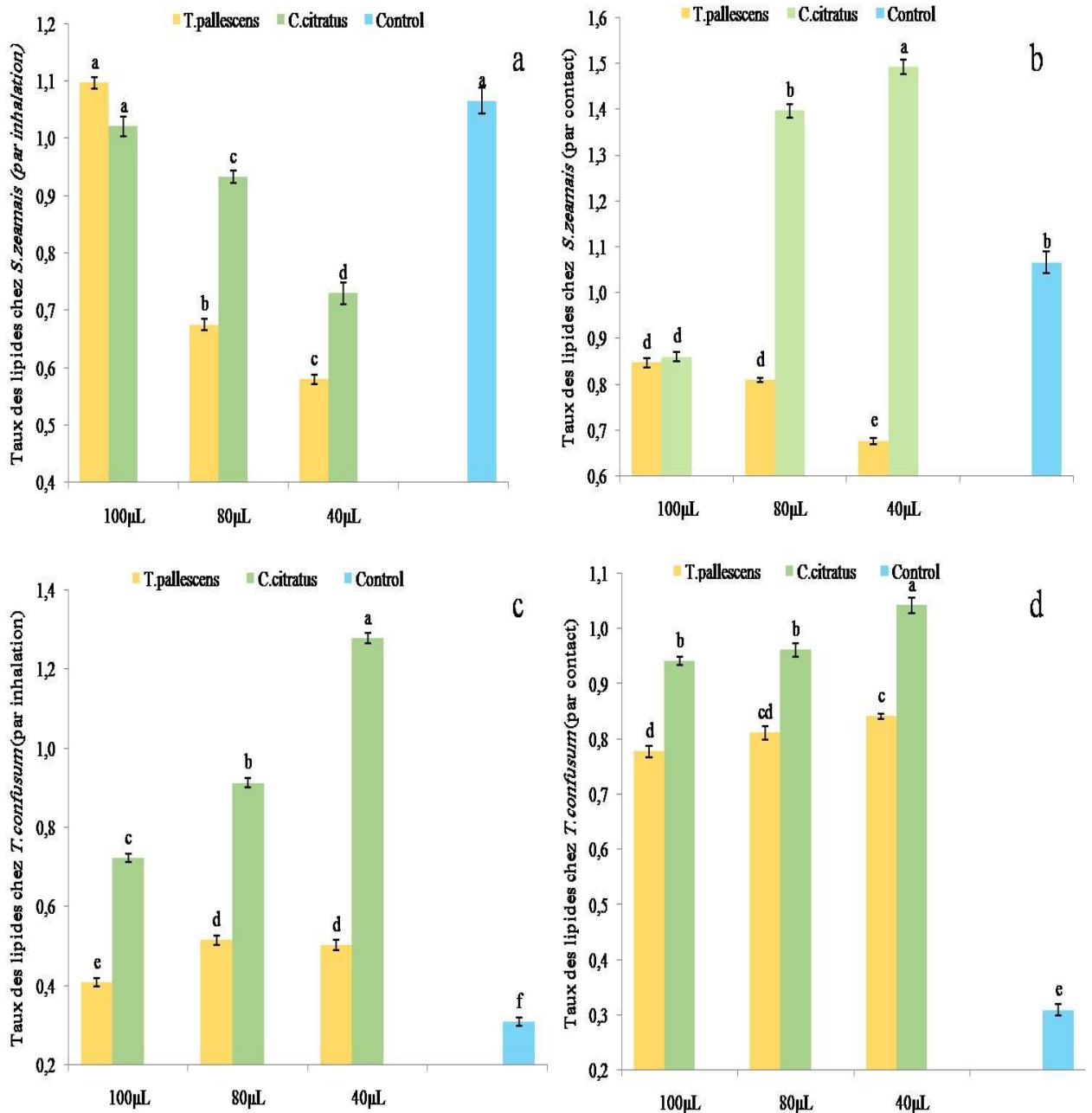


Figure 24. Variation des taux des lipides chez les adultes de *T. confusum* et *S. zeamais* exposés à différentes doses des formulations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la Moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

Par ailleurs, une diminution des teneurs protéiques chez les individus traités avec les deux formulations et avec toutes les concentrations. Dans ce cadre, une diminution qui s'étale

entre 12.81 à 30.44% pour les traitements avec l'huile de *T. pallecsens* et entre 12.31 à 26.65% avec l'huile de *C. ciratus*. Néanmoins, les traitements par contact ont suivies la même tendance que le traitement par inhalation.

L'analyse de données affichées sur la figure indique une diminution significative des teneurs en protéines chez les individus de *T. confusum* traités par contact avec l'HEs de *T. pallecsens* et de *C. ciratus* avec les concentrations de 40, 80 et 100µL. cette diminution est variable entre 12.50 à 29.29% et 12.16 à 25.66%.

Par ailleurs, les traitements des Individus des *T. confusum* par inhalation en utilisant les HEs de *T. pallecsens* et de *C. ciratus* indiquent une augmentation des taux des protéines environ 5.43 % et 21.43% par la concentration 100 µL. Par contre, les individus traités par la concentration de 80 et 40 µL affichent une diminution de l'ordre de 9.69 à 9.22% et 11.01 à 17.44%.

Les teneurs en lipides ont été diminués significativement chez les individus de *S. zeamais* traités par inhalation avec les deux formulations de HE. L'exception a été notée chez les individus traités avec la formulation de *T. pallecsens* à la concentration 100µL. Le traitement par contact une augmentation des teneurs en lipides a été constatée chez les populations traitées avec les concentrations 40 et 80 µL de la formulation de *C. citratus*. En revanche, une baisse considérable dans les teneurs en lipides chez les populations traitées avec la formulation de *T. pallecsens* qui s'allonge entre 20.49 à 57.53 %.

D'une manière générale, les traitements de la population de *T. confusum* par les deux formulations de l'HE de *T. pallecsens* et de la *C. citratus* ont montré également une augmentation des niveaux de lipides. Cependant, l'augmentation la plus élevée a été notée chez les populations traitées avec l'huile de *C. citratis* en comparaison avec l'huile de *T. pallecsens*.

Une augmentation entre 32.13 à 66.47% a été constatée chez les populations de *T. confusum* traitées avec la formulation de *T. pallecsens* par inhalation. Cependant, elle est entre 133.68 à 313.18% chez les populations traitées avec les formulations de la *C. citratis*. La lecture montre une augmentation entre 151.33 à 171.99% chez la population traitée par l'huile de *T. pallecsens*, alors quelle est 204.24 à 236.95% chez la population traitée avec la formulation de *C. citratus*.

2. Discussion

D'après les résultats de l'analyse par CpG, il paraît que les composés phénoliques sont les constituants majeurs de l'HE de *Thymus pallescens* notamment le carvacol (54.09%), le thymol (16.24%) et le β -binène. Autrement, cette huile est relativement pauvre en hydrocarbures mon terpéniques tel que gamma-terpinène (5.60%) et p-cymène (8.47%). Ces résultats corroborent ceux obtenus par (Hazzit *et al.*, 2009), où ils ont signalé que le carvacrol (41.5%) et gamma-terpinène (16.6%) sont les principaux composants de l'HE extraite à partir *T. pallescens* d'origine algérienne. D'autre part, Benchaabane *et al.*, 2015 ont avéré que la composition chimique de l'HE du *Thym* révèle que celle-ci est caractérisée par de très fortes teneurs en monoterpènes oxygénés (85.52%) alors que les monoterpènes hydrocarbonés sont présents en faibles quantités (13.5%), ce qui est en accordance avec nos résultats.

La composition chimique des HES de *T. pallescens* et *C. citratus*, ainsi que les pourcentages des différents composés sont recensés dans le tableau 1. Il ressort de tableau que le profil chimique de l'HE de *T. pallescens* présente plus de 32 composés, dont 70.60% sont des phénols. Les composants majeurs de cette HE sont le carvacrol (54.09%), le thymol (16.24%), le γ -terpinène (8.47) et le p-cymène (4.23%) linalol (3.06%). Cependant, l'HE de *C. citratus* renferme plus de 42 composés, alors que les : géraniol (21.86%), limonène (7.9%) et le camphène (7.89%) sont les composants majoritaires.

Dans notre étude, l'HE de *C. citratus* a présentées une légère différence avec celles rapportées dans la littérature. A cet effet, Bassolé *et al.*, (2011) et Tofiño-Rivera *et al.*, (2016) ont indiqué que les principaux composés d'OE de *C. citratus* sont le géraniol (48.1%) et le néral (34.6 %) ce qui est contradictoire avec nos résultats on nous a montré que le géraniol est le composé majoritaire. Toutefois, certains éléments chimiques secondaires dans la présente étude ont été décrits par d'autres chercheurs comme composés majoritaires des HE de *C. citratus*. Bien que les travaux de Tyagi et Anushree (2010) confirment la richesse de l'huile essentielle de *C. citratus* en b-Citral (26.5%) et en a-Citral (36.2%).

De nombreux travaux de recherches ont confirmé que l'utilisation inconsidérée des pesticides chimiques a eu d'autres conséquences néfastes, notamment la réduction de la biodiversité, l'apparition de résistance contre les insecticides, la destruction d'une grande partie des organismes utiles tels que les organismes prédateurs des parasites, ajouter a ceux-ci les effets secondaires sur la santé humaine. Cet état constitue aujourd'hui une grande préoccupation dans le monde entier. De nombreux pays, notamment ceux de l'Europe et de l'Amérique comme ont instauré une réglementation stricte vis-à-vis des pesticides afin de limiter leur utilisation. De nos jours, de nombreuses recherches sont orientées vers ces

moyens naturels. La recherche de méthodes alternatives de protection des denrées stockées par l'usage de substances inertes telles que les substances végétales à effet insecticide (Cissokho et al., 2015).

De ce fait, les plantes peuvent fournir des solutions alternatives potentielles aux agents chimiques utilisés actuellement contre les insectes. Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les HEs constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Shaaya et al., 1991). L'effet insecticide des HEs par contact et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (Isman, 1994). C'est dans cette optique que nous avons proposé d'évaluer quelques techniques traditionnelles afin de valider des solutions alternatives à l'utilisation des pesticides dans les stockages céréaliers. C'est dans cette optique que nous avons conduit cette étude. La présente étude avait pour objectifs l'étude de l'effet des HEs de quelques plantes aromatiques sur les populations ravageuses des céréales et leur effet sur les réserves énergétiques.

Deux HEs extraites à partir de deux plantes aromatiques et médicinales à savoir *T. pallescens* et *C. citratus* sont investiguées pour leur effet insecticide à l'égard de deux insectes des denrées stockées notamment *S. zeamais* agent dommageable de grains de maïs et *T. confusum* agent de détérioration des blés stockées. Ce travail a été achevé à travers l'évaluation de l'effet léthal sur les adultes exposés aux différentes doses des HEs formulées et leurs effets sur les biomarqueurs (lipides, protéines et glucides).

Les résultats obtenus indiquent un effet hautement significatif des HEs sur la mortalité des adultes de *S. zeamais* et *T. confusum*. Cependant, l'efficacité des huiles est fonction l'espèce végétale, le type de l'insecte, la dose appliquée et le temps d'exposition. A ce titre, l'HE formulée à base de *T. pallescens* est avérée la plus efficace contre les deux ravageurs comparés avec l'huile formulée à base de la *Citronnelle*. Nos résultats indiquent la sensibilité des insectes cibles au mode inhalation mieux que le mode contact. Bien que l'efficacité insecticide soit dose dépendantes pour les deux formulations.

En effet, cette activité peut s'expliquer par les principaux composés des huiles essentielles (Herman *et al.*, 2016 ; Carovic-Stanko *et al.*, 2010) les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques). Des composés chimiques qui ont une grande efficacité et à plus large spectre sont présents dans les huiles essentielles en particulier les phénols (1.8 cinéole, carvacrol) les alcools, (α - terpeneol,

terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones (Camphor, etc.) (Herman *et al.*, 2016), ce qui explique l'activité insecticides sur les insectes des denrées stockées.

Les propriétés insecticides de nombreuses HEs est principalement attribuée aux monoterpénoïdes qui sont généralement volatiles et lipophiles qui peuvent rapidement pénétrer dans les insectes et interfèrent avec leurs fonctions physiologiques (Reis *et al.*, 2014). En outre, les composants chimiques présents dans les Eos tels que le thymol, le linalool, le citronellol, le limonène, le carvacrol et le α - et le β -pinène ont été largement documentés pour être des composés possèdent des activités larvicides et adulticides contre différents insectes nuisibles incluant les cafards (Appel *et al.*, 2001), les moustiques (Watanabe *et al.*, 1993), les mouches domestiques (Singh et Singh, 1991), les produits stockés (Tripathi *et al.*, 2002) et les termites (Zhu *et al.*, 2001a, b).

Le pouvoir bio-insecticides et les différences observées dans l'efficacité des huiles essentielles sont expliqués d'une part par la composition et la richesse des huiles testées en composés d'une part et de leurs variabilités en fonction des espèces végétales d'autre part. Il est cependant clair qu'ils interviennent directement sur la morphologie ou la physiologie de l'organisme nuisible.

Dans notre étude, l'analyse des huiles essentielles par CPG ont montré que l'huile de *T. pallescens* a montré sa richesse en carvacrol (54.09%) et en thymol (16.24 %). Cependant, l'HE de *C. citratus* est avéré très riche en Camphène, 1,8-Cineole, alpha-Thuyone, Isochrysanthenone et bêta-Thuyone, ce qui explique ces propriétés insecticides vis-à-vis les insectes traités. Ces composés ont été caractérisés par leur activité biocide et répulsive contre de nombreux ravageurs des denrées stockées (kellouche *et al.*, 2004 ; Mansour *et al.*, 2015). Certains auteurs ont avéré que l'activité insecticide de *T. pallescens* est due principalement aux composés majoritaires de cette huile telle que le thymol, le carvacrol. En outre, le thymol a été signalé comme un composant qui exerce un effet analgésique sur les récepteurs $\alpha 1$ - $\alpha 2$ et β -adrénergiques (Shabnum et Wagay, 2011). Autrement, le Thymol et le Carvacrol, testés individuellement, montrent plus actifs contre les larves d'*Alphitobius diaperinus* que l'huile essentielle de *Thym* (Szczepanik *et al.*, 2012). Cependant, le Carvacrol à une large activité insecticide et affecte les insectes des denrées stockées par inhalation (Ahn *et al.*, 2000). Le Thymol et le Carvacrol sont très efficaces en inhibant la reproduction d'*Acanthosceides Obtectus* (Say) (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995). Ces composés sont également efficaces contre *Oryzaephilus Surinamensis* (L.) (Shaaya *et al.*, 1990).

En effet, d'après les travaux (d'Obeng-Ofori *et al.* 1997), les propriétés insecticides de 1,8-cinéole, le linalool, l'eugénol, α -terpinéol et le cymol ont été démontrées sur plusieurs

insectes *Tribolium confusum*, *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae), *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae), *Rhyzoperta dominica* (Coleoptera : Bostrichidae) et *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). L'HE riche en linalol, thymol, et carvacrol montre une activité toxique vis-à-vis des insectes, ce ci est confirmé par les travaux de (Traboulsi *et al.*, 2002), qui ont testé huit composés contre les moustiques et ils ont prouvé que le thymol et le carvacrol présentent une activité insecticide très élevée.

Le type et la nature des constituants et leur concentration individuelle explique d'une part par l'activité insecticide (Paolini *et al.*, 2010 ; Sharifian *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2010), mais aussi le résultat d'une interaction synergique entre tous les composants d'autre part. Cependant, il serait difficile de lier les activités insecticides et répulsives des huiles uniquement à l'effet individuel des constituants de l'HE ; cela pourrait être dû à l'effet synergique de plusieurs éléments de l'huile. Des interactions complexes peuvent se produire entre les constituants majeurs et mineurs d'une manière synergique qui affecte l'activité insecticide. De même, les mélanges d'EO provenant de différentes plantes peuvent avoir une activité plus élevée que les extraits individuels de manière difficile à prédire (Geden, 2012). Par exemple, l'activité insecticide des terpènes (Ts) dans certains EO était inférieure à celle des EO eux-mêmes (Palacios *et al.*, 2009). En effet, (Zhang *et al.*, 2014) ont signalé que les propriétés de la bioactivité de *A. argyi* (H. Lév. Et Vaniot) l'HE peut être attribuée à la synergie entre les composants majeurs et mineurs de l'huile essentielle. Nos résultats indiquent l'effet insecticide des huiles essentielles de thym et de la Citronnelle par contact ou par inhalation mais avec des degrés variables. Cependant, l'effet par inhalation est avéré efficace comparé avec ceux par contact. Ce dernier est traduit par le calcul de la DL₅₀ pour chaque mode d'emploi. Dans cette optique le La DL₅₀ par contact.

En effet, suivant le mode d'application soit par contact ou par inhalation, l'huile essentielle peut affecter directement ou indirectement les fonctions physiologiques de l'insecte traité. Il est probable que les HEs affectent le système nerveux et le système digestif de l'insecte.

Des études antérieures expliquant le mode d'action des HEs ont montré que ces composés naturels peuvent provoquer des symptômes qui indiquent une activité neurotoxique, tel que l'hyperactivité, saisies et des tremblements suivis d'une paralysie et la mort de l'insecte qui sont très semblables aux effets produits par les insecticides de type pyréthroïdes. Par ailleurs, a rapporté que les HEs sont des neurotoxines puissantes et peuvent inhibées l'enzyme acétylcholinestérase dans le système nerveux central. Ces effets ont été confirmés par les travaux menés par (Polatoğlu *et al.* 2016), dont les résultats obtenus par ces auteurs

ont montré que l'HE de *Crithmum maritimum* L. (Apiaceae) a provoqué une d'inhibition l'AChE d'environ 50.3% et l'BChE avec un taux de 59.8%. L'inhibition de l'enzyme AChE d'une sélection de monoterpénoïdes incluant le α -terpinène a été étudiée et ces substances ont été déclarées comme des inhibiteurs faibles. Cependant, dans le même rapport, AChE enzyme a été signalé comme étant capable d'avoir plus d'un monoterpène comme inhibiteur (López *et al.*, 2015). Autrement, (Abdelgaleil *et al.*, 2016) ont rapporté des nouvelles contributions sur le mode d'action des HEs sur les insectes des denrées stockées par l'inhibition de l'activité des ATPases. Cependant, (Guo *et al.*, 2009) ont constaté que les monoterpénoïde, Le terpinène-4-ol, ont une forte inhibition de l'activité de la Na⁺, K⁺ et l'ATPase de la mouche domestique in vivo et in vitro.

Pour chaque HE testée, les résultats montrent qu'il existe une variation concernant le taux de mortalité des insectes qui dépend de la dose utilisée en HEs et la durée d'exposition. A cet effet, (Kim *et al.*, 2003) ont confirmé que l'activité toxique des HEs dépend de l'espèce d'insecte, de la plante et du temps d'exposition.

Les différences de la réponse des deux espèces d'insectes pourraient être attribuées aux différences morphologiques et comportementales entre eux. Ces résultats se corroborent avec ceux obtenus par Nenaah et Ibrahim (2011) après les travaux sur l'effet adulticide des HEs de *Cinnamomum camphora*, *Ocimum basilicum*, *Chenopodium ambrosioides*, et *Pimpinella anisum* contre les insectes des denrées stockées *Trogoderma granarium* (Everts) et *Tribolium castaneum* (Herbst). Ces auteurs ont montré leur efficacité sur ces espèces, dont le taux de mortalité et variable selon l'espèce végétale, le temps et l'insecte cible.

Les résultats obtenus par inhalation et par contact corroborent à ceux obtenus par (Benchabane *et al.*, 2015). Ces chercheurs ont constaté que l'HE de *Thym* (*T. pallescens*) est efficace par contact sur *Tribolium confusum* provoquant une mortalité totale après 144 heures d'exposition par contact ainsi que par inhalation. Cependant, les tests par contact ont été avérés plus efficaces que par inhalation. Autrement, l'efficacité de l'huile de *T. pallescens* augmente significativement au fur et à mesure l'augmentation de la concentration. Kechout (2001) avait testé l'efficacité d'HE du *Thym* sur *Sitophilus oryzae* avec un taux de mortalité évalué à 85%. Benazzeddine (2010) souligne que par contact les quatre HEs (*Romarin*, *Eucalyptus*, *Thym* et *Menthe*) manifestent un taux de mortalité assez important sur *S. oryzae* dont toutes les huiles ont une efficacité très forte qui dépasse 88 % de mortalité. (Bittner *et al.*, 2008) ont testé la toxicité des HEs de cinq plantes aromatiques sur *S. zeamais*. Les résultats révèlent que les huiles extraites du *T. vulgaris* sont les plus toxiques sur *S. zeamais*.

Tapondjou *et al.*, (2005), ont évalué l'activité insecticide des HEs du cyprès et de l'eucalyptus vis-à-vis de *Sitophilus zeamais* et de *Tribolium confusum*, ces auteurs ont obtenus des DL₅₀ différentes pour les deux insectes appliqués par contact, ils obtiennent 0.36µl pour *Sitophilus zeamais* et 0.48 µl pour *Tribolium confusum*, démontrant ainsi l'efficacité de ces deux HEs sur ces deux insectes. L'effet insecticide des HEs de certaines plantes (*Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*. Et *Thymus vulgaris*) contre les ravageurs des denrées stockées comme : *Sitophilus oryzae* et *Tribolium castaneum*. A ce titre, *Sitophilus oryzae* et *Ryzopertha dominica* présentent le maximum de sensibilité pour les HEs (Rozman *et al.*, 2007).

Dans le même contexte, (Abbad *et al.*, 2014) a signalé la toxicité par contacts de l'huile essentielle d'A. herba-alba contre *T. castaneum*. En outre, les HEs de diverses espèces appartenant au genre *Artemisia* a présenté une toxicité par contact contre *Sitophilus zeamais* (Motschulky) principale ravageur plusieurs de plusieurs produits stockés : (*Artemisia vestita*, (Chu *et al.*, 2010) ; *Artemisia capillaris* et *Artemisia mongolica* (Fisch. Ex Besser) (Liu *et al.*, 2010) ; *Artemisia frigida* Willd. (Liu *et al.*, 2014), *Acanthoscelides obtectus*, (A. herba-alba, (Mohamed *et al.*, 2010).

Une étude a été conçue pour évaluer l'effet des HEs extraites de *Rosmarinus officinalis* et *Armoise herbe blanche* sur *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera : Bruchidae) dans des conditions de laboratoire. Les doses utilisées étaient 1 à 5 pl / 30 g de semences pour HE de chaque plante. Les résultats montrent que les deux HEs testées étaient très toxiques pour les adultes de *A. obtectus*, et ils provoquent également une réduction significative de la fertilité des bruches. La DL₅₀, Calculé après 48 heures d'exposition, a montré que l'HE extraite de *Rosmarinus officinalis* était le plus toxique pour les adultes avec un DL₅₀ = Graines 0.59µL / 30g, tandis que le DL₅₀ = 1.69µL graines / 30g pour l'armoise herbe blanche.

Tapondjou *et al.*, (2005), ont bien mis en exergue l'activité insecticide des HEs du cyprès et de l'eucalyptus vis-à-vis de *Sitophilus zeamais* et de *Tribolium confusum*, ces auteurs ont obtenus des DL₅₀ différentes pour les deux insectes appliqués par contact ; ils obtiennent 0.36 µL/cm² pour *Sitophilus zeamais* et 0.48 µL/cm² pour *Tribolium confusum*, démontrant ainsi l'efficacité de ces deux HEs sur ces deux insectes.

Plus récemment (Owabali *et al.*, 2009) ont réalisé des tests sur l'efficacité par contact des trois huiles essentielles : *Citronnelle* (*Cymbopogon citratus*), *Ecrou mégohm* (*Monodora myristica*), *Gingembre* (*Zingiber officinales*) sur *Sitophilus zeamais*, ces auteurs confirme nos résultats, en effet la *Citronnelle* moins toxique sur *S. zeamais* avec les DL₅₀ de 0.56 µL/cm²

tandis que *Monodora myrstica* et *Zingiber officinales* ont des toxicités plus faibles que *Symbopogon citratus* avec les DL₅₀ de 0.60 et 0.70 µL/cm² respectivement.

Plus récemment Camara (2009) a étudié l'efficacité des HEs d'*Ocimum basilicum L.* et *Ocimum gratissimum* et de *Cymbopogon citratus* par fumigation et contact sur grains sur *S. oryzae L.* et *T. castaneum Herbst*, cet auteur a signalé que l'huile de *Cymbopogon citratus* n'a provoqué aucune mortalité durant 6 jours d'exposition par inhalation.

Les Huiles essentielles d'*A. capillaris* et *A. mongolica* possèdent une toxicité vis-à-vis des adultes de *S. zeamais* atteints de LC₅₀ valeurs de 5.31 et 7.35 mg / L respectivement. Les HEs montrent également une toxicité par contact contre *S. zeamais* adultes avec des valeurs de DL₅₀ environ 105.95 et 87.92 µg / adulte, respectivement (Liu *et al.*, 2010).

L'HE de *M. exotic* a montré une toxicité vis-à-vis les adultes du *S. zeamais* et *T. castaneum* avec des valeurs de DL₅₀ environ 8.29 et 6.84 mg/L, respectivement. Les HEs montrent également une toxicité par contact contre les adultes de *S. zeamais* et de *T. castaneum* avec des valeurs DL₅₀ de 11.41 et 20.94 mg / adulte, respectivement (Liu *et al.*, 2010).

L'HE d'*A. vestita* a présentait une forte toxicité vis-à-vis des adultes de *S. zeamais* avec une DL₅₀ de 13.42 mg / L d'air. L'HE de *A. vestita* a également montré une toxicité de contact contre les adultes de *S. zeamais* avec une valeur de DL₅₀ de 50.62 mg / adulte (Chu *et al.*, 2010). Les HEs obtenues à partir de *Gomortega keule*, *Laurelia sempervirens*, *Origanum vulgare*, *Eucalyptus globulus* et de *Thymus vulgaris* ont été analysées pour leur effet insecticide contre *Sitophilus zeamais* selon les doses 1, 2, 4 ou 8 µl / l d'air. Les résultats ont montré des différences significatives entre les doses testées et les périodes d'exposition aux HEs. Cependant, les HEs d'*E. Globulus* et de *T. vulgaris* sont les plus efficaces contre *S. zeamais* (Bittner *et al.*, 2008).

Les protéines, les lipides (triglycérides) et les glucides (glycogène) constituent les ressources énergétiques des insectes (Wigglesworth, 1942 ; Locke et Collins, 1968). En effet, Les réserves énergétiques glucidiques sont sollicitées pour les fonctions somatiques et de mobilité. Alor s que, la disponibilité des lipides et du glycogène semble être le résultat d'une balance entre la prise de nourriture et les demandes de réserves pour la croissance et la reproduction (Essaïdi *et al.*, 2014).

En effet, nos résultats expliquent également des fluctuations au niveau des réserves énergétiques des deux insectes traités avec les différentes concentrations des HEs. Les résultats obtenus révèlent des variations très hautement significatives pour les différents composés (lipides, glucides et protéines) chez les individus traités. Dans ce contexte, nous

avons constaté une augmentation dans les niveaux des lipides, et des glucides. Par contre, une diminution au niveau des protéines.

On peut expliquer l'augmentation des teneurs lipidiques chez les insectes sous l'effet du par les deux HEs par l'élévation de la fonction physiologique sous l'effet de stress provoqué essentiellement par les substances bioactives des HEs. Un changement comportemental a été constaté chez les individus traités également indiqué par des agglomérations puis des accouplements entre les males et les femelles. Ceci a été constaté chez 60% de la population traitée avec l'huile se *Thymus* et 40% chez la population traitée par l'huile de la *Citronnelle*. En effet, les résultats obtenus confirment ceux obtenus par Benfkh et Djazouli, (2014), où ces chercheurs ont constaté une augmentation dans le taux des lipides chez les insectes processionnaires traitées par les extrais aqueux. Cependant, ils ont attribué ce phénomène aux effets des substances végétales qui ont transformées les réserves glucidiques en lipides stockés pour la survie des DL_{50} dont la durée du stade pourrait être prolongée, donc cette énergie stockée serait allouée à la croissance. D'une part, l'augmentation des taux des lipides a été attribuée aux effets de détoxifications, attribuées à l'effet des crytoxines qui agissent sur l'épithélium intestinal inhibant l'ingestion de la nourriture et qui provoquant une surconsommation des lipides pour la survie des larves, à travers les mécanismes de détoxification.

L'augmentation des taux des lipides et peut être expliquée par le renforcement des téguments des insectes pour prévenir les effets néfastes des HEs. Selon Morgan (2004) la couverture externe des insectes consiste en une couche lipidique imperméable, souvent composée d'alcanes, d'alcanes à ramification méthyle et d'alcènes. Cette couche lipidique est importante pour prévenir la déshydratation et repousser la pluie ; et chez les insectes sociaux (abeilles, guêpes, fourmis et termites). Autrement, l'augmentation des taux des lipides dans le corps des insectes et probablement due aux déclenchements des mécanismes des résistances des insectes contre le stress des HEs.

Les acides gras sont des métabolites primaires, mais sont également la source de nombreux métabolites secondaires tels que les phénols et les quinones Morgan (2004)

Nous avons en effet remarqué que sous l'effet du traitement par les HEs une importante diminution des taux des protéines et des glucides comparées avec les témoins non traités. Cela a été comparable chez les deux insectes et les deux huiles. Les effets des molécules bioactives des HEs peuvent varier en fonction des molécules elles-mêmes obtenues à travers la méthode d'extraction utilisée, ou de la dose utilisée.

Chapitre III. Résultats et discussion

Ce cas peut être expliqué le mode d'action des huiles sur les insectes, provoquent des perturbations physiologiques et métaboliques chez les insectes traités en inhibant la synthèse des protéines. Ces résultats peuvent être expliqués par les travaux de (Guo *et al.*, 2009) qui ont montré que les HEs ont une forte inhibition de l'activité de la Na^+ , K^+ et l'ATPase de la mouche domestique in vivo et in vitro. Les résultats obtenus sont analogues à ceux obtenus par Benfkh et Djazouli, (2014) après un traitement des insectes processionnaires par les extraits végétaux.

Conclusion

Les dégâts considérables provoqués par les ravageurs des denrées stockées en particulier les insectes, sont souvent contraints et imposent l'agriculteur à recourir à des mesures de protection, dont la plus utilisée est la lutte chimique. A l'heure actuelle, l'utilisation de ces produits synthétiques devient de plus en plus non souhaitable en raison de leur nocivité pour l'organisme et l'environnement et surtout le développement des insectes résistants.

La recherche de nouvelles méthodes alternatives plus efficaces et moins polluantes s'avère donc nécessaire, ainsi l'utilisation de formulations à base des plantes aromatiques peut présenter de nombreux avantages par rapport aux insecticides de synthèses. Dans cette optique, notre étude a été achevée pour déterminer l'efficacité des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* comme une méthode de lutte alternative aux pesticides chimique contre deux ravageurs potentiels des céréales à savoir *S. zeamais* et *T. confusum*, afin de montrer l'effet de ces biomolécules sur les réserves énergétiques de ces derniers.

Les résultats obtenus montrent que les deux formulations ont manifesté des effets insecticides très remarquables sur la population des deux ravageurs, dont l'intensité de la mortalité corrigée varie selon le type de l'huile, le ravageur cible, la dose appliquée et le temps d'exposition.

L'huile essentielle de *T. pallescens* affecte significativement la vitalité des adultes de *S. zeamais*. Les résultats obtenus par contact après 96h dénotent également 80% de mortalité corrigée avec les concentrations de 80 et 100 μL et 76,67% avec la concentration 40 μL . Cependant, la mortalité corrigée provoquée par la formulation de *C. citratus* vis-à-vis *S. zeamais* est de l'ordre de 6,67 % et 66,67% après 24 h avec les concentrations 10 et 80 μL , respectivement.

Par ailleurs, les tests par inhalation sur les adultes de *S. zeamais* ont atteint un taux de 36,67% et 80% de mortalité corrigée après 96h de traitement avec les concentrations de 10 et 100 μL de la formulation de *T. pallescens*, respectivement. Toutefois, le taux de mortalité devient de plus en plus remarquable avec le temps et devient variable entre 6,67 et 73,33% après 96h d'exposition.

L'effet insecticide par contact le plus élevé a été noté après 96h d'exposition chez les individus de *T. confusum* à la concentration 100 μL . Cependant, les résultats obtenus indiquent un effet marquant avec la concentration 100 μL de l'huile essentielle de *C. citratus*, où nous avons constaté une mortalité corrigée environ 80% après 24h de traitement.

Les tests par inhalation des huiles essentielles de *T. pallescens* sur *T. confusum* provoquant une mortalité corrigée qui s'étale entre 23,33 et 93,33% après 96h de traitement

Conclusion

avec les concentrations de 10 et 100 μ L, respectivement. Autrement, l'effet par inhalation d'HE de *C. citratus* a enregistré des mortalités inférieures à 40% à la dose 80 μ L,

D'après l'examen des valeurs des DL₅₀ après 24h d'exposition des insectes aux différentes doses des huiles testés, on a constaté que les deux huiles essentielles agissent mieux par contact que par inhalation. Cependant, les valeurs les plus faibles de la DL₅₀ ont été notées pour les traitements par l'huile essentielles de *T. pallecsens* par contact.

La population de *S. zeamais* traitée ont enregistré une diminution des teneurs glucidiques chez les individus traités par la formulation de *T. pallecsens* avec des pourcentages entre 8,17 et 12,87%. Par contre, la et *T. confusum* ontmarqué une augmentation entre 0,86 à 11,62% après leur exposition aux formulations à base *C. citratus*.

L'analyse de données expose une diminution significative des teneurs en protéines chez les individus de *S. zeamais* traité avec l'huile essentielles de *T. pallecsens* et de *C. ciratus* avec les concentrations de 40 et 80 μ L. cette diminution et variable entre 4,85 à 16,30% et 15,88 à 30,33%.

Les résultats obtenus indiquent une diminution significative des teneurs en protéines chez les individus de *T. confusum* traités par contact avec l'huile essentielles de *T. pallecsens* et de *C. ciratus* avec les concentrations de 40, 80 et 100 μ L. cette diminution et variable entre 4,85 à 16,30% et 15,88 à 30,33%. Par contre, les individus traités par la concentration de 40 et 20 μ L affichent une diminution de l'ordre de 4,85 à 16,30% et 15,88 à 30,33%.

Les teneurs en lipides ont été diminués significativement chez les individus de *S. zeamais* traités par inhalation avec les deux formulations de l'huile essentielle. L'exception a été notée chez les individus traités avec la formulation de *T. pallecsens* à la concentration 100 μ L. Une augmentation des taux des lipides qui varie entre 32,13 à 66,47% a été constatée chez les populations de *T. confusum* traitées avec la formulation de *T. pallecsens* par inhalation. Cependant, elle est entre 133,68 à 313,18% chez les populations traitées avec les formulations de la *C. citratis*.

Résumé

La présente étude a été conduite pour évaluer l'activité insecticide des huiles essentielles (HEs) de *Thymus pallescens* et *Cymbopogon citratus* contre *Sitophilus zeamais* et *Tribolium confusum*. La toxicité contre ces deux ravageurs a été évaluée par inhalation et par contact. Les deux huiles essentielles testées ont montré une activité insecticide très prononcée et dose-dépendante. Les résultats obtenus démontrent une mortalité corrigée variable entre par contact et par inhalation de la population de *S. zeamais* avec les concentrations 40 et 100 μL de l'huile essentielles de *T. pallescens*, respectivement. Par ailleurs, la même huile essentielle qui engendre une mortalité corrigée variable entre 76.67 et 80% par contact et 66.67 à 80 % par les concentrations 40 et 100 μL , respectivement. Les deux ravageurs ont avéré plus au moins résistants contre l'huile essentielle de *C. citratus* que ce soit par contact ou par inhalation. Néanmoins, les valeurs de la DL_{50} obtenus reproduisent les résultats obtenus et les DL_{50} les plus inférieures ont été obtenus par l'huile essentielle de *T. pallescens* par contact environ 55.08 et 69.50 μL contre *S. zeamais* et *T. confusum*, respectivement. En revanche, les DL_{50} sont constatées très élevées par *C. citratus* et par inhalation environ 76.33 et 97.03 μL , respectivement. L'analyse des réserves énergétiques chez les inhalations traitées indiquent un effet significatif sur le taux des lipides, protéines et glucides. Une augmentation des teneurs en protéines et des glucides chez les insectes traités avec les concentrations les plus élevés. Par contre, une augmentation des taux des lipides a été constaté notamment chez *S. zeamais*. Les plantes botaniques à l'étude ont montré une activité de protection des grains considérable contre les espèces d'insectes testées et pourraient être incluses dans les stratégies de gestion intégrée des ravageurs des denrées stockées.

Mots-clés : Huiles essentielles, *Thymus pallescens*, *Cymbopogon citratus*, *Sitophilus zeamais* et *Tribolium confusum*, réserves énergétiques.

Abstract

The present study was designed to assess the insecticidal activity of the essential oils (EOs) of *Thymus pallescens* and *Cymbopogon citratus* against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium confusum*. The chemical composition of the plant oils was identified by gas chromatography (GC) and GC/mass spectrometry (MS). Fumigant and contact toxicities of the essential oils were evaluated against. The effects of the essential oils on energetical reserves were examined. All of the tested essential oils showed insecticidal activities against the test insects in a dose-dependent manner. The obtained result showed that *S. zeamais* was more susceptible to the tested EOs than *T. confusum*. Therefore, EO of *T. pallescens* was more effective against both species. The oils of *T. pallescens* generate a corrected mortality variable between 76.67 and 80% by contact and 66.67 to 80% by fumigation at the concentrations 40 and 100 μL , respectively. Both insects showed more or less resistant against *C. citratus* EO also by contact or by fumigation. Nevertheless, the values of the DL_{50} obtained to reproduce the results obtained and the lowest DL_{50} were obtained by the EO of *T. pallescens* by contact at about 55.08 and 69.50 μL against *S. zeamais* and *T. confusum*, respectively. On the other hand, the DL_{50} values are found to be very high by *C. citratus* and by inhalation at about 76.33 and 97.03 μL , respectively. The analysis of energy reserves in treated inhalations indicates a significant effect on the level of lipids, proteins, and carbohydrates. An increase in protein and carbohydrate levels in insects treated with the highest concentrations. On the other hand, an increase in lipid levels has been observed especially in *S. zeamais*. The botanicals studied showed considerable grain protection activity against the tested insect species and could be included in integrated pest management strategies for stored products.

Keywords: Essential oils, *Thymus pallescens*, *Cymbopogon citratus*, *Sitophilus zeamais*, *Tribolium confusum*, energy reserves