

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA
FACULTÉ DES SCIENCES AGRO-VÉTÉRINAIRES ET BIOLOGIQUES
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

**Evaluation de l'efficacité d'une formulation solide d'huile
essentielle sur les insectes des denrées stockées
Impact des conditions de stockage sur la stabilité de la formulation**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master 2 en Sciences de la Nature
et de la vie

Spécialité : Phytopharmacie Appliquée

Présenté par : **MAHDIA Khadidja**

Devant le jury composé de :

Mr OULD RABEH .I	U.S.B. BLIDA	M.A.A.	Président
Mr DJAZOULI .Z.E	U.S.B. BLIDA	M.C.A	Promoteur
Mme MOUSSAOUI BABA AISSA .K	U.S.B. BLIDA	Doctorante	Co-promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012/ 2013

Remerciements

En premier lieu, je remercie Dieu le tout puissant pour m'avoir donné le courage, la volonté, la force et la patience pour bien mener ce modeste travail.

*Il m'est agréable d'exprimer ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements à mon promoteur **Mr DJAZOULI Z.E**, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour ses orientations dont j'ai bénéficié. Il m'a réservé des moments précieux de discussion et m'a facilité toutes les conditions pour mener à bien ce travail, malgré ses multiples obligations ; qu'il soit assuré de toute ma gratitude.*

*Je tiens aussi à exprimer mes remerciements les plus sincères à ma Copromotrice **Mme MOUSSAOUI BABA-AISSA. K**, pour sa générosité, sa gentillesse, sa patience et ses précieux conseils pour l'établissement de ce travail.*

*Je remercie **Mr OULD RABEH I**, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury, et d'apporter son jugement sur ce travail.*

Mes sincères remerciements s'adressent également à ma très chère mère qui m'a soutenue le long de mes années d'études avec amour et patience et qui a beaucoup sacrifié pour me voir heureuse et réussie ; que Dieu te garde pour moi « Inchallah ».

Je tiens à remercier tout particulièrement ma sœur Aicha pour son amour et son soutien et ses précieux conseils ; que Dieu te garde aussi pour moi.

*Je remercie mes amies: **RAZIKA, ASMAA, KAWTHER, FATOUMA, SOUAD, FATNA, TAHRAOUI .M** pour leur soutien constant, leurs conseils, et pour tous les bons moments que nous avons passé ensemble.*

*Mes remerciements vont aussi à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, notamment, monsieur **MOUSSAOUI K.***

On ne saura terminer cette liste de remerciements sans dire notre profonde gratitude à tous nos enseignants et nos professeurs qui ont assuré notre formation.

Evaluation de l'efficacité d'une formulation solide d'huile essentielle sur les insectes des denrées stockées Impact des conditions de stockage sur la stabilité de formulation

Résumé

Les substances d'origine naturelle et plus particulièrement les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative de lutte chimique pour la protection des denrées stockées.

La présente étude envisage l'évaluation de l'activité biocide de deux formulations poudreuses à base de deux huiles essentielles l'une de Lavande et l'autre d'Eucalyptus. Ces dernières sont appliquées à différentes doses et estimées à température de 25°C et de 30°C sur les deux formes biologiques (adultes et larves) du *Tribolium castaneum* (Herbst). Considéré comme un ravageur redoutable des denrées stockées.

Les résultats obtenus ont pu démontrer une nette différence d'efficacité de l'huile essentielle formulée d'Eucalyptus qui se traduit par un fort pourcentage de mortalité de *T.castaneum* par rapport à celui de l'huile essentielle de Lavande ainsi qu' une plus grande sensibilité des larves aux formulations appliquées par rapport aux adultes. La dose D3 mentionne une supériorité de toxicité à l'égard de la D2 et la D1.

Il est à noter que pour les deux formulations biologiques, l'écart de température influence la qualité des traitements appliqués en signalant majoritairement une meilleure efficacité à 30°C.

Mots clés: Eucalyptus, formulations, huiles essentielles, Lavande, température, *Tribolium castaneum*

Evaluating the effectiveness of essential oils formulated as powder on stored product insects formulation

Effect of storage conditions on the stability of formulation

Abstract

The substances of natural origin and more particularly oils essential currently represent a chemical alternative solution of fight for the protection of the stored food products.

The present study considers the evaluation of the biocide activity of two powdery formulations containing two essential oils one of Lavender and the other of Eucalyptus. These last are applied to various amounts and are estimated at a temperature of 25°C and 30°C on the two biological forms (adult and larvae) of *Tribolium castaneum* (Herbst). Regarded as a frightening ravageur of the stored food products.

The got results could show a clear difference in effectiveness of the formulated essential oil of Eucalyptus which results in a high percentage of mortality corrected of *T.castaneum* per contribution to that of the oil essential of Lavender as well as a greater sensitivity of the larvae with the formulations applied compared to the adults. The D3 amount mentions a superiority of toxicity with regard to D2 and D1.

It should be noted that for the two biological formulations, the variation in temperature influences the quality of the treatments applied by mainly announcing a better effectiveness to 30°C. Keywords:

Keywords: Eucalyptus, formulations, oils essential, Lavender, temperature, *Tribolium castaneum*.

تقييم فعالية زيوت عطرية صيغت على شكل مسحوق على حشرات المنتجات المخزنة تأثير ظروف التخزين على استقرار الصيغة

ملخص

المواد الطبيعية وخاصة الزيوت الأساسية تمثل حاليا بديلا للمكافحة الكيميائية لحماية المنتجات المخزنة.

وترى هذه الدراسة تقييم نشاط مبيدين للحشرات من تركيبات المساحيق استنادا الى اثنين من الزيوت الأساسية الخزامى والأوكالبتوس. يتم تطبيق هذه الاخيرة بجرعات مختلفة ويقدر عند درجة حرارة 25 C° و 30 C° على كل أشكال البيولوجية (للبالغين واليرقات) من خنفساء الدقيق كاستانيم التي تعتبر آفة خطيرة من المنتجات المخزنة.

أظهرت النتائج وجود اختلاف كبير في فعالية الزيت العطري من الأوكالبتوس الذي أدى إلى ارتفاع نسبة وفيات خنفساء الدقيق كاستانيم مقارنة مع الزيت العطري للخزامى فضلا عن حساسية اليرقات إلى الصيغ المطبقة أكبر بالمقارنة مع البالغين. الجرعة D3 تسجل سمية متفوقة على D2 و D1. وتجدر الإشارة إلى التركيبات البيولوجية ، أن الفرق في درجة الحرارة يؤثر على نوعية العلاجات المستعملة التي في الغالب تسجل أفضل كفاءة في 30 C° .

كلمات البحث : الأوكالبتوس، التركيبات ، الزيوت العطرية، الخزامى ، درجة الحرارة، خنفساء الدقيق كاستانيم.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1. Introduction.....	3
I.2. Importance du blé dans le monde et en Algérie.....	3
I.3. Conservation et stockage des denrées.....	4
I.4. Altération des grains des céréales stockées.....	7
I.5. Les insectes ravageurs des denrées.....	14
I.6. Les moyens de lutte utilisée en stocks.....	20
CHAPITRE II Matériel et méthodes	22
II.1. Objectif.....	26
II.2. Matériel d'étude.....	26
II.3. Méthodes d'étude.....	29
II.4. Analyse statistique des résultats	31
CHAPITRE III : RÉSULTATS	33
III.1.Evaluation de l'effet létal et perturbateur des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	33
III.2.Evaluation de l'effet létal et perturbateur corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	37
III.3. Tendances de l'efficacité des différentes formulations d'huiles essentielles sur les formes biologiques de <i>Tribolium castaneum</i>	41
III.4. Etude comparée de l'efficacité des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	44
CHAPITRE IV : DISCUSSION GENERALE	47
Conclusion et Perspectives	55
ANNEXE	
Référence bibliographique	

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Composante importantes de l'écosystème du grain stocké avec leurs interactions, agissant sur les agents de la qualité finale (pour la transformation industrielle) (vincent c., 2000).....	7
Figure I.2. Ecosystème du grain stocké (Cangardel., 1978).....	8
Figure I.3. Influence des températures sur le développement des ravageurs de denrées entreposées. (Kodio, 1989).....	10
Figure I.4. Diagramme de conservation des céréales (Burges et Burrel in : Anonyme., 2003).....	12
Figure I.5. Succession des agents biologiques dans le stock de céréales (Diagramme de CANGARDEL., 1978, modifié).....	13
Figure 1.6. Tribolium brun de la farine <i>Tribolium castaneum</i> (Sinha, Watters, 1985 In Dellil, 2011).....	19
Figure I.7. Dégâts de <i>Tribolium castaneum</i> , a (Original.; 2013), b (Julio., 2011).....	20
Figure II.1. Présentation de <i>Tribolium castaneum</i>	26
Figure II.2. Dispositif d'élevage du matériel biologique des bio-essais.....	27
Figure II.3. Présentation du matériel végétal <i>Tribolium castaneum</i>	27
Figure II.4. Présentation des biopesticides utilisés.....	28
Figure II.5. Schéma récapitulatif de la logique des traitements appliqués.....	29
Figure III.1. : Taux de mortalité des larves.....	33
Figure III.2. : Taux de mortalité des adultes.....	34
Figure III.3. : Taux de perturbation.....	35
Figure III.4. : Taux de mortalité des larves.....	35
Figure III.5. : Taux de mortalité des adultes.....	36
Figure III.6 : Taux de perturbation.....	37
Figure III.6. : Mortalité corrigée des larves.....	38
Figure III.7. : Mortalité corrigée des adultes.....	38
Figure III.8.: Perturbation corrigée des adultes.....	39
Figure III.9. : Mortalité corrigée des larves.....	39
Figure III.10 : Mortalité corrigée des adultes.	40
Figure III.11. : Perturbation corrigée des adultes.....	40
Figure III.12. : Analyse en composantes principales (A.C.P.) de la mortalité corrigée de <i>Tribolium castaneum</i> en fonction du temps et de la température....	42

Figure III.13. : Analyse en composantes principales (A.C.P.) de la perturbation corrigée des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> en fonction du temps et de la température.....	43
Figure III.14. : Modèle GLM appliqué à la mortalité corrigée sous l'effet des huiles essentielles, des doses, des formes biologiques et de la période.....	45
Figure III.15.: Modèle GLM appliqué à la perturbation corrigée sous l'effet des huiles essentielles, des doses, des formes biologiques et de la période.....	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.1.1. Description des différents formes biologiques de <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst) A : l'oeuf (Rebecca et al ., 2003) ; B: larve. C: nymphe, D: adulte (Walter, 2002).....	17
--	----

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

ACP	Analyse en Composantes Principales
°C	Degrés Celsius
Fig.	Figure
g	gramme
C.A.H	classification ascendante hiérarchique
%	pourcentage.
DL50	dose létale
G.L.M	modèle linéaire global.
h	heures
HE	huile essentielle
D	dose
T	Tribolium
EU	Eucalyptus
LV	Lavande
TM	témoin
P	probabilité.
M	molécule ;
F	farine
MC	la mortalité corrigée
M	pourcentage de morts dans la population traitée
Mt	pourcentage de morts dans la population témoin
P	Périodes
AD	adultes
LR	larves
TL50	temps létal
T°	température

INTRODUCTION GENERALE

Les céréales et leurs dérivés constituent la principale source de protéines dans de nombreux pays en voie de développement et les pertes causées à ce type de denrées lors de leur stockage sont estimées à 100 millions de tonnes dont 13 millions sont provoqués par les insectes. Dans les pays développés ces pertes avoisinent les 3 %, alors qu'en Afrique elles atteignent les 30 % (Silvy C et Riba G.,1999). D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture(FAO), les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale. (Abbassi et *al.*, 2005, Senthil-Nathan et *al.*, 2006;Jbilou et *al.*, 2008).

L'Algérie n'échappe pas à ce problème où les dégâts provoqués seulement par les insectes dépassent de loin les 33% en période d'été, (température optimale de développement des insectes) (Mebarkia. et *al.*, 2006). Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (Alzouma et *al.*,1994; Fleurat-Lessard.,1994). Parmi les coléoptères, le plus fréquent est le Tribolium rouge de la farine (*Tribolium castaneum Herbst*) (*Coleoptera:Tenebrionidae*) qui représente une partie très importante des ravageurs des denrées stockées (Throne., 1994). Il peut causer des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés.

Les méthodes de protection les plus efficaces au niveau des stocks sont les pesticides chimiques (Relinger et *al.*, 1988; Hall., 1970). Ces produits de synthèse 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). L'inconvénient de ces insecticides de contact est qu'ils ont souvent une faible activité sur certains stades d'insectes, notamment certaines formes de *Sitophilus oryzae* cachées dans les grains. Leur utilisation excessive provoque aussi l'apparition de souches résistantes dans la population des insectes traités. Il en résulte généralement une accumulation des résidus des pesticides dans le sol, la contamination des aliments ainsi que les risques sanitaires liés à leur manipulation (Léonard., 2004).

Les recherches de moyens de limitation de l'utilisation de ces insecticides dangereux prennent de plus en plus d'importance. A cet effet, de nombreux travaux récents se sont penchés sur la recherche de nouvelles substances ayant des pouvoirs insecticides respectueux de la santé humaine et de l'environnement.

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 ; Tunc et *al.*, 2000 ; Isman, 2000 ; Hummelbrunner et Isman, 2001 ; Huang et *al.*, 2002 ; Tapondjou et *al.*, 2003; Tripathi et *al.*, 2003; Koonan et Njoya, 2004 ; Kellouche et Soltani, 2004 ; Tapondjo et *al.*, 2005 ; Tiaiba, 2007; Owabali et *al.*, 2009 ; Camara, 2009).

Dans ce travail nous proposons d'évaluer l'activité insecticide de deux huiles essentielles formulées sous forme solide de deux plantes aromatiques (Eucalyptus, Lavande) appliquées à différentes doses sur deux formes biologiques (larves et adultes) du *Tribolium castaneum* Herbst qui est un ravageur redoutable des stocks ; soumises à deux températures différentes (25°C ,30°C) pendant un suivi de 52 heures.

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Introduction

A l'échelle mondiale, les pertes de produits agricoles occasionnées par les ravageurs des denrées stockées sont estimées à 10%. Ce pourcentage, encore plus élevé dans les pays de l'Afrique souligne l'importance du problème à résoudre et constitue un défi persistant aux acteurs économiques qui se trouvent face à une demande alimentaire croissante des populations. (Fleurat-Lessard.,1994). Les graines de légumineuses représentent la principale source de protéines dans de nombreux pays en voie de développement. Malheureusement elles subissent des pertes considérables durant le stockage (Kellouche et Soltani., 2004).

I.2. Importance du blé dans le monde et en Algérie

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama et al., 2005)

Selon Alt-Talebl (2002), les céréales et leur dérivés constituent l'ultime point commun entre des régimes alimentaires différenciés par l'élargissement de l'échelle des revenus (pauvre, riche), la composition de la population (rurale, urbain) et les influences culturelles (tradition, modernité). Elle traduit une homogénéité de la consommation et une nécessité commune à l'ensemble de la population.

En Algérie, les céréales et leurs dérivés constituent la principale source du système alimentaire et représentent un élément stratégique aussi bien du point de vue superficie agricole occupée qu'économique et nutritionnel. (Djermoun., 2009). La production nationale de blé oscille entre 2 millions et 2,8 millions de tonnes par an. Le reste des besoins, soit près de 5 millions de tonnes, est importé. (Benalia., 2007).

I.3. Conservation et stockage des denrées

La poussée démographique, les calamités climatiques et l'amélioration de la qualité de l'alimentation obligent à une suite d'efforts permanents pour assurer l'autosuffisance et la sécurité alimentaire, entre autre améliorer le potentiel génétique des variétés cultivées, extérioriser ce potentiel par des techniques culturales optimales. Enfin, stocker et conserver cette production en quantité et en qualité jusqu'au jour de sa consommation, devient une question d'intérêt primordial (Stedman., 1984).

I.3.1. Principes et moyens de conservation

Conserver un produit, c'est le maintenir en bon état pendant une durée plus en moins longue et dans un milieu bien déterminé afin qu'il ne subisse aucune modification dans sa structure et dans sa composition biochimique pour rester sain et de bonne qualité marchande (Pantenius., 1998) En effet, des moyens très variés et fort efficaces sont utilisés lors de la conservation du grain tenant compte de son taux d'humidité (Multon., 1982).

I.3.1.1. Conservation des grains à l'état sec

L'efficacité de ce moyen de conservation, nécessite la réalisation de traitements préliminaires, comme le nettoyage qui consiste à éviter toute sorte d'altération des grains par élimination des grains cassés et des impuretés présents dans des grains de la céréale (Bousson ., 1995) ; le transilage qui permet la circulation des grains d'une cellule à une autre ; permettant l'aération du grain et limitant le développement d'insectes ravageurs (Favreau., 1988) ; la ventilation pour abaisser et stabiliser la température en faisant circuler l'air ambiant et uniformiser le taux d'humidité dans les cellules. En effet une température de 5°C à 7°C tue les insectes et ralentie la croissance des moisissures (Pfoh-Leskowicz et al., 2001).et enfin le séchage dont le rôle est de déshydrater rapidement les grains jusqu'à une humidité assez basse pour que leur métabolisme et celui des micro-organismes associés soient très fortement ralentis est qualifié comme étant la technique la plus fréquemment employée pour éviter la dégradation des denrées stockées. (Sigaut., 1981).

I.1.3.2. Conservation des grains humides

Multon (1982) trouve que la conservation des grains très humides, dont le taux d'humidité dépasse 85% (cas du maïs) ne peut se faire que par un séchage immédiat. Ce procédé, permet de ramener la teneur en eau du grain à un niveau plus ou moins normal, inférieur ou égal à 12%.

I.3.2. Principe et modes de stockage

Après nettoyage, séchage et désinfection des grains, ils doivent être maintenus dans des conditions de température inférieure à 12°C et une teneur en eau de 11 à 12%, pour éviter toute réhumidification des grains et tout échauffement biologique. (Safir., 1999).

Selon (Bakour et Bendifallah., 1990), le stockage en sacs ne convient qu'à court terme, mais il se trouve le plus utilisé, car il permet une grande souplesse et une manutention facile. Le stockage en vrac est la mise des denrées dans des silos, hangars ou autres structures pour un meilleur contrôle de la qualité du produit à l'entrée et une homogénéisation des lots permettant de livrer aux consommateurs un produit de qualité standard et contrôlé. Dans ce type de stockage, des pertes très élevées sont enregistrées en raison de son accessibilité aux insectes, rongeurs et oiseaux (Multon., 1982). Le stockage du blé en silo C'est une nouvelle méthode pour le stockage des grains elle est efficace et diminue les dégâts, ce qui limite l'attaque des ravageurs (Jard., 1995). Ce sont des enceintes cylindriques en béton armé ou en métal. Elles sont fermées à leur partie supérieure par un plancher sur lequel sont installés les appareils de remplissage des cellules. L'emploi des silos réduit la main d'œuvre, augmente l'aire de stockage et supprime l'utilisation des sacs onéreux (Doumandji et al., 2003).

I.3.2.1. Techniques de stockage

Multon (1982), distingue deux types de stockage celui en atmosphère renouvelée qui comporte des cellules ventilées d'une silothermométrie qui contrôle la température et permet de déclencher la ventilation, si un échauffement biologique anormal est décelé et celui en anaérobiose qui permet de détruire les insectes et les acariens, en bloquant toutes les réactions d'oxydation. Cette dernière technique présente le Stockage en atmosphère confinée qui consiste à conserver les grains dans une structure étanche pour agir sur le facteur «composition des gaz du milieu». En consommant de l'oxygène et en rejetant du gaz carbonique, les grains et les micro-organismes créent un milieu asphyxiant pour les insectes qui sont tués lorsque le taux d'oxygène est inférieur à 2 % (Barton., 1961) ; le Stockage en atmosphère modifiée dont La conservation sous gaz neutre va consister à remplacer rapidement l'air interstitiel par un gaz inerte (azote où mélange azote gaz-carbonique). Elle est utilisée surtout pour le stockage des céréales où les produits sont conservés en cellules métalliques soudées mises sous gaz neutre (N₂: 85 %; CO₂: 13 %; O₂: 2 %) (Anonyme., 1995) ; le stockage sous vide qui tue les insectes et stoppe le développement des micro-organismes et le Stockage par le froid qui arrête le développement des insectes au-dessous de 10°C.et le ralentissement du métabolisme propre des grains (Berhaut et Niquet., 1996).

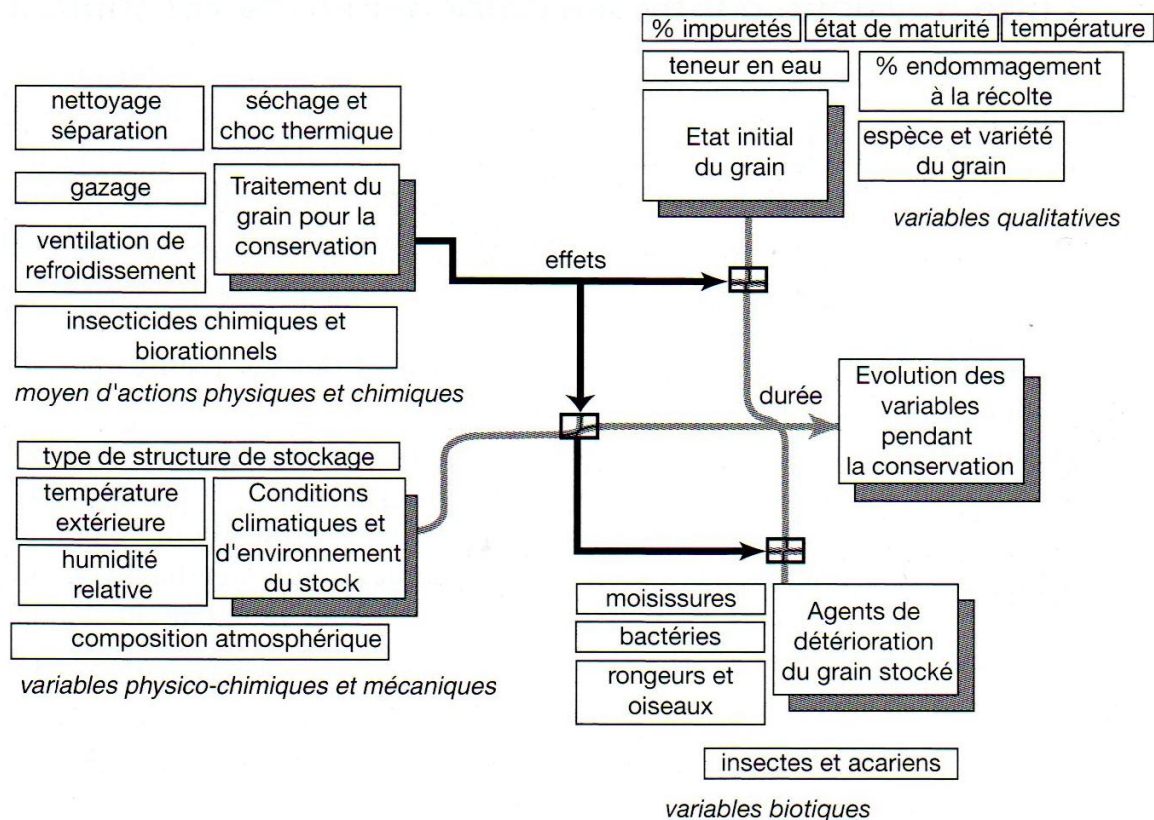


Figure I.1. Composante importantes de l'écosystème du grain stocké avec leurs interactions, agissant sur les agents de la qualité finale (pour la transformation industrielle) (vincent c., 2000).

Au cours de la conservation prolongée des produits agricoles non périssables (grains et graines, fruits secs, produits dérivés, plantes séchées et déshydratées, épices, plante aromatiques et condimentaires, café, cacao, etc.) les pertes les plus importantes sont infligées par des insectes ou des acariens, et sont la conséquence de la prolifération de certain micro-organisme, les autres agents de détérioration (Vincent C., 2000) (Figure I.1).

I.4. Altération des grains des céréales stockées

La conservation des céréales est un problème à multiples interrelations liées à la complexité même de l'écosystème des grains entreposés. En fait, la masse de grains est une entité comprenant deux types d'organismes vivants : la céréale elle-même, bien qu'en état de vie ralentie et un ensemble d'autres organismes dont la présence est soit obligatoire (micro-organismes) soit facultative ou fortuite (insectes, acariens, petits vertébrés) (Sigaut., 1980).

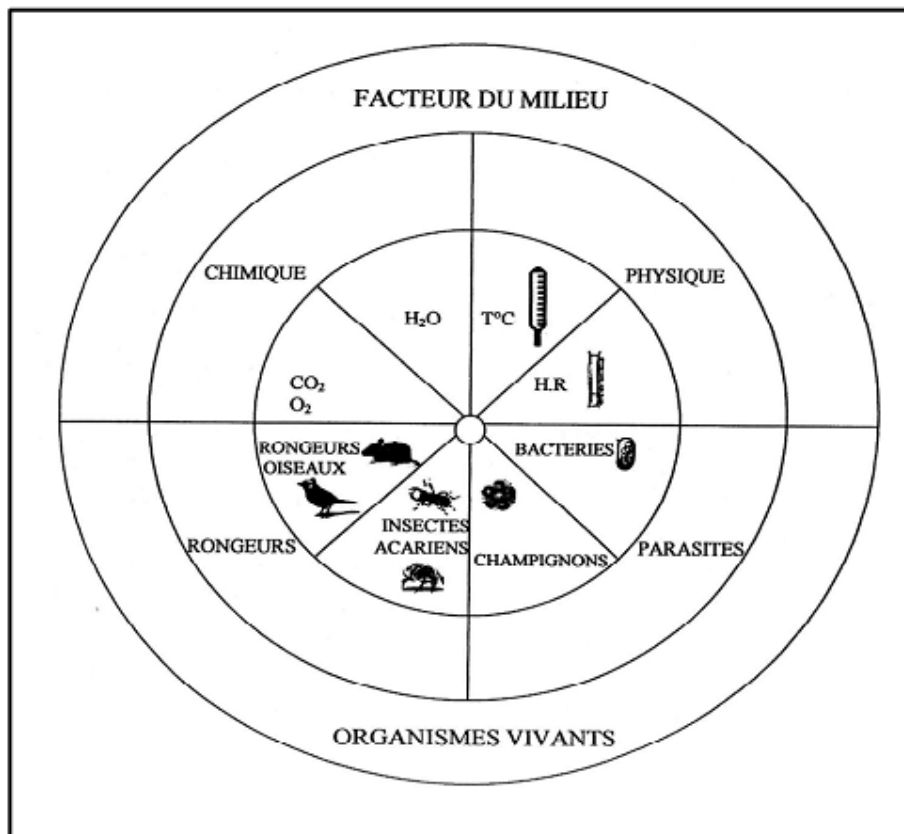


Figure I.2. Ecosystème du grain stocké (Cangardel., 1978)

Les céréales stockées constituent un biotope en équilibre instable qui peut être détruit par l'action de tout agent physique ou biotique. L'écologie du stockage consiste à étudier les interactions entre les divers organismes biotiques et leur milieu (Figure I.1)

Les agressions peuvent être d'ordre enzymatique (Hydrolase). Chimique ou biochimique (dénaturation des protéines et des acides nucléiques, destruction des vitamines et les oxydations non enzymatique Mécaniques (fissures). Biotique (consommation alimentaire, contamination, accumulation de gaz carbonique et de chaleur par les insectes ou les micro-organismes). Abiotique (atmosphère intergranulaire, température, humidité relative). (Cahagnier et Fleurat-Lessard., 2002b).

I.4.1. Facteurs abiotiques

Les principaux facteurs qui conditionnent l'ampleur de ces diverses altérations sont : Le temps, l'humidité du grain, la température du grain et l'oxygène.

I.4.1.1. Le temps

Considéré comme prépondérant car il conditionne la durée des dégradations. Plus un grain humide attend d'être traité, plus il se dégrade, il convient donc d'agir le plus rapidement possible après la récolte pour mettre ce grain dans de bonnes conditions de stockage (Anonyme., 1996).

I.4.1.2. La température

La température seule peut agir sur le taux de croissance des ravageurs de denrées stockées. Pour chaque espèce, il existe un optimum de développement et des degrés différents de tolérance thermique. En effet, les températures optimales, maximales et minimales, varient avec les groupes spécifiques de ravageurs (De luca., 1975). Les grains sont mauvais conducteurs thermiques. Ainsi la chaleur engendrée dans la masse de grain en stock est difficilement évacuée. Les élévations de température résultantes sont parfois fortes et localisées. Les gradients de températures ainsi élevés créent et engendrent un double transfert de chaleur et de vapeur d'eau de la zone la plus chaude vers les zones froides (Gough et al., 1987).

En effet, les insectes nuisibles de grains ne peuvent achever leur cycle complet de développement (de l'œuf à l'adulte suivi de l'accouplement et de la ponte) à des températures inférieures à 10°C ou supérieures à 35°C. Leur reproduction est retardée à des températures inférieures à 15°C (Lepesme., 1944 ; Zehrer., 1975 ; Cangardel., 1978 ; Ducom., 1980 ; Fleurat-Lessard, 1982a, 1982b ; Multon., 1982 ; Farjan, 1983 ; Wassila-Habes., 1983). Le minimum thermique de développement larvaire est de 10°C, alors qu'à 30°C, la larve atteint un seuil optimal de développement (Bonnemaison., 1962). La détérioration touche principalement les processus biochimiques et enzymatiques. Les insectes exigent pour se développer une fourchette de température se situant généralement entre 12 et 40 °C. Au-dessous du seuil de température (Fleurat-Lessard., 1989b).

Cependant, il convient d'ajouter que plus la température élevée, plus les réactions d'altérations sont rapides et leur évolution dépend du milieu (Kossou et Aho., 1993).

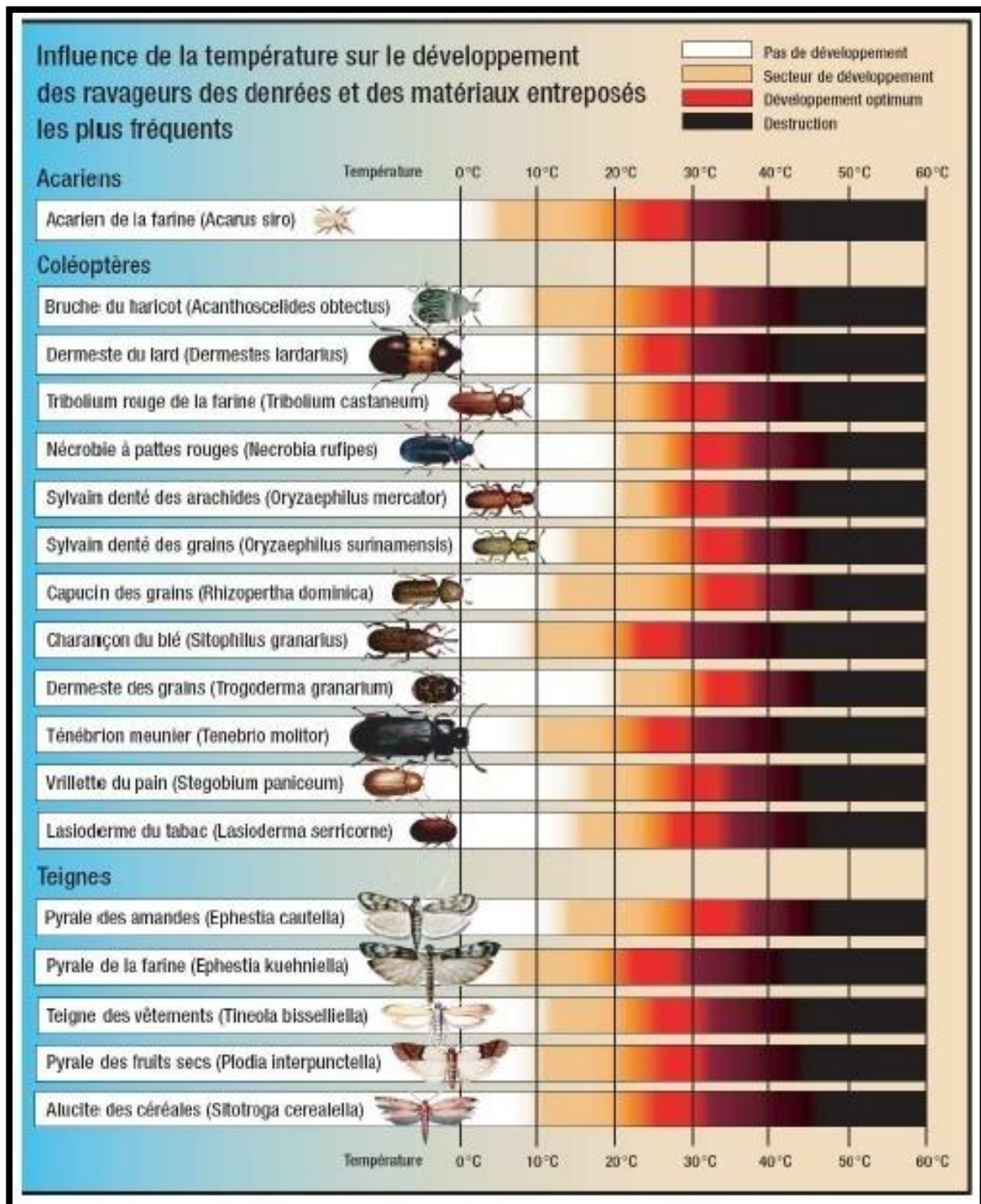


Figure I.3. Influence des températures sur le développement des ravageurs de denrées entreposées. (Kodio, 1989)

I.4.1.3. Humidité

L'humidité agit sur le développement des insectes ravageurs des denrées stockées, mais à un degré moindre par rapport à la température. En effet, pour De Luca (1975) Les minima de température et d'humidité relative sont plus importants que les maxima pour ralentir ou arrêter le développement larvaire et, par conséquent, les dégâts. L'humidité relative minimale agit sur les embryons, à l'intérieur des œufs, en provoquant le dessèchement et: la mort alors que l'état d'équilibre qui s'établit entre l'humidité du produit (teneur en eau) et l'hygrométrie de l'air ambiant détermine les mécanismes physiologiques et physicochimiques responsables des altérations (Bottomley et al., 1950; Christensen., 1970 ; Pixton et Warburton., 1971 ; Mackay., 1976 ; Brunkun et al., 1977).

L'existence des corrélations température-humidité relative est ainsi plus importante que l'impact individuel de ces deux facteurs climatiques sur le développement des ravageurs des denrées stockées (De Luca., 1975 ; Cangardel., 1978 ; Ducom., 1980 et Piltz., 1981).

I.4.1.4. Oxygène

En aérobiose, les substances de réserves constituées essentiellement de lipides et d'amidons sont détruites et consommés par les réactions d'oxygénation. Il en résulte une perte de matière sèche du stock qui se traduit pratiquement par une baisse de valeur alimentaire. (Bottomley et *al.*, 1950).

En anaérobiose, certaines bactéries sont capables de dégrader les réserves et d'en extraire l'énergie nécessaire à leur propre développement, à travers la réaction de fermentation. (Bottomley et *al.*, 1950).

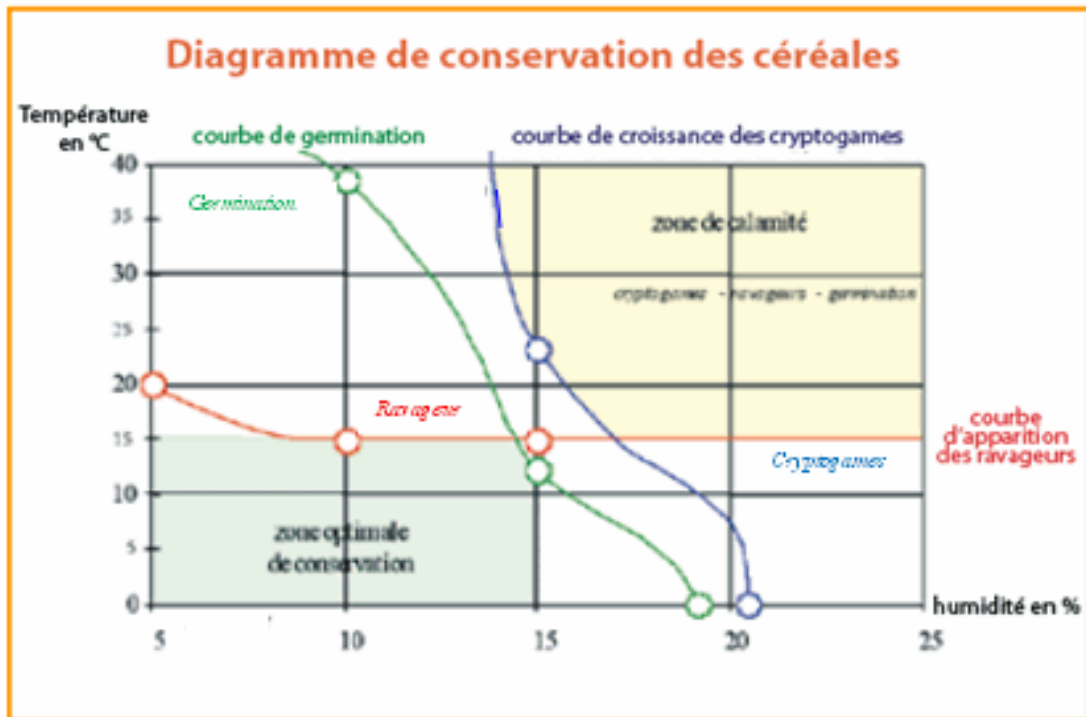


Figure I.4. Diagramme de conservation des céréales (Burges et Burrell in : Anonyme., 2003)

Selon Burges et Burrell in (Anonyme., 2003), les effets couplés de ces différents facteurs (température, humidité et oxygène), déterminent les zones à risques d'altération et les zones de bonne conservation. Ceci est bien illustré au niveau de la figure 2. On a toujours intérêt à maintenir la température de préférence en dessous de 18°C, quand la teneur en eau du grain est aux alentours de 15%. Le diagramme montre aussi la grande instabilité du grain humide qui s'abîme dès que la température excède 10°C. On admet qu'au-delà de 17% de teneur en eau et plus de 20°C, le grain ne pourra se conserver seul sans intervention.

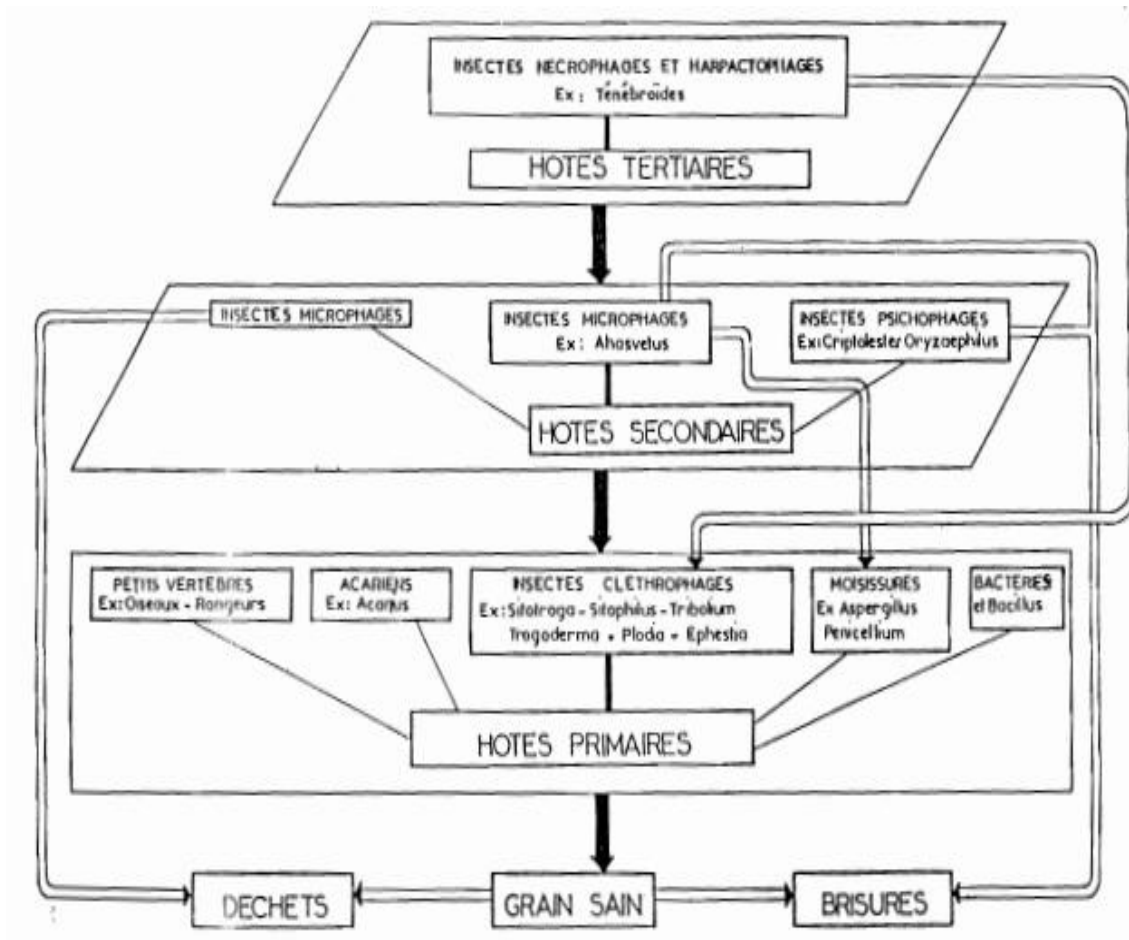


Figure I.5. Succession des agents biologiques dans le stock de céréales (Diagramme de Cangardel., 1978, modifié)

I.4.2.Facteurs biotiques

I.4.2.1.Les vertébrés

Plusieurs vertébrés tels que rongeurs, souris, rats ; oiseaux, peuvent vivre aux dépens des stocks de grains mal protégés, leurs déjections peuvent servir de vecteurs à des germes pathogènes (Multon., 1982). Il est important de les combattre dans un but économique mais également dans un but sanitaire, car ces mammifères déprécient les denrées par les souillures qu'ils y déposent (urines, fèces, dépôts gras) et les risques sanitaires afférents. Ils sont souvent les vecteurs de parasites et peuvent être responsable de diverses maladies: rage, peste bovine et porcine, Ils peuvent également endommager les structures de stockage, les sacs, les câbles électrique etc... (Koussou et Aho., 1993).

I.4.2.2.Les bactéries

De nombreuses bactéries peuvent atteindre plusieurs millions par gramme sur les grains fraîchement récoltés. La population bactérienne est essentiellement constituée par des eubactéries qui renferment une très forte proportion d'Entérobactéries, notamment de coliformes pigmentés ou bactéries jaune, toujours abondantes sur les céréales (Richard-Molard in Multon., 1982).

I.4.2.3.Les moisissures

Les principales moisissures responsables des altérations au niveau du stockage, font partie des genres *Aspergillus* et *Penicillium* (Pfohl-Lesz Kowicz et *al.*, 2001). La contamination des grains entreposés par les moisissures peut entraîner suivant la durée de conservation et les conditions du milieu de stockage, divers types de dégâts comme la perte de la faculté germinative du grain et la production de mycotoxine (Kossou et Aho., 1993).

I.5. Les insectes ravageurs des denrées

Les insectes rencontrés sur les stocks des denrées alimentaires sont nombreux. Les coléoptères (*Sitophilus*, *Rhyzopertha*, *Trogoderma*,...) et les lépidoptères (*Sitotroga*, *Ephestia* et *plodia*) sont les principaux ordres d'insectes parasites des stocks de grains (Boudreau et Ménard., 1992). Qu'ils soient à l'état adulte ou larvaire, certains attaquent les graines entières, d'autres des graines cassées, aussi bien que de la farine. (Steffan., 1978) ; (Baker et Loschiavo., 1987) ; (Paulian., 1988) ; (Delobel et Tran., 1993a).

I.5.1.Les coléoptères des denrées

Les coléoptères constituent l'un des ordres comportant de nombreuses espèces nuisibles aux denrées stockées, notamment les céréales. Certains ne commettent que des dégâts modestes, par contre d'autres constituent les vrais ennemis des stocks alimentaires (Steffan, 1978 ; Paulian, 1988 ; Delobel et Tran, 1993).

I.5.1.1. Présentation de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797)

I.5.1.1.1. Caractères généraux des Ténébrionidae

Les Ténébrionidae 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, colorée ou «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 longs ou tout au contraire, contractées, souvent fousseuses (Balachowsky., 1962).

I.5.1.1.2. Etude du genre *Tribolium*

Le genre *Tribolium* se compose de petits coléoptères extrêmement communs en France en Amérique du nord (Lepesme., 1944) leur taille varie de 3 à 4 mm de long et leur couleur brun plus ou moins foncé (Balachovsky., 1963).

Selon Lepesme (1944), ces insectes sont peu actifs et se nourrissent de produit de mouture, ils se dissimulent de préférence dans les recoins obscurs. *Tribolium confusum* Duv et *Tribolium castaneum* Herbst Sont deux espèces semblables d'aspect et de taille identiques, se distinguant par la forme de leur antennes chez *T. castaneum* *Herbest*, les trois derniers articles sont nettement plus gros et forment une sorte de massue ; d'autre part le rebord de la tête déborde latéralement le niveau de l'œil chez la première espèce contrairement à la seconde.

I.5.1.1.3. Position systématique de *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797)

Selon Lepesme (1944) la classification de cette espèce est

Embranchement	<i>Arthropoda.</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Ordre	<i>Coleoptera</i>
Sous Ordre	<i>Polyphaga</i>
Famille	<i>Tenebrionidae</i>
Sous Famille	<i>Ulominae</i>
Genre	<i>Tribolium</i>
Espèce	<i>Tribolium castaneum</i> Herbst.

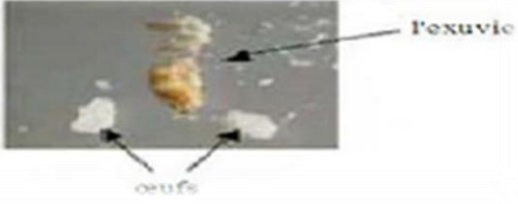



I.5.1.1.4. Origine et répartition

Selon Lepesme (1944), *Tribolium castaneum* H. est une espèce cosmopolite. Il est d'origine Indo-Australienne (Smith et Whitman., 1992) et est trouvé dans des secteurs tempérés, mais survivra l'hiver dans les endroits protégés, particulièrement où il y a de la chaleur centrale (Tripathi et al., 2001). En Afrique le *Tribolium* a une distribution différente en ce qui se produit dans le monde entier dans les climats les plus frais (Smith et Whitman., 1992).

1.5.1.1.5. Les différents stades de *Tribolium castaneum* (Herbst)

Tableau.1.1.Description des différents formes biologiques de *Tribolium castaneum* (Herbst)

A : l'oeuf (Rebecca et al ., 2003) ; B: larve. C: nymphe, D: adulte (Walter, 2002).

Les différent états de <i>Tribolium castaneum</i>	Description morphologique
<p>A</p> 	<p>oblong et blanchâtre, presque transparent, de 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); (Balachowsky et Mensil, 1936).</p>
<p>B</p> 	<p>vermiforme, de couleur jaune pâle allongé et cylindrique ; elle porte quelque fine et longue soie jaunâtre plus nombreuse sur le neuvième segment abdominal (Lepesme, 1944), de petite taille ne dépassant pas 1.4 mm. portant à son extrémité abdominale une paire d'urogomphes, passant par 5 à 12 stades larvaires (Lepigre, 1966).</p>
<p>C</p> 	<p>blanche et nue, les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bords crénelés. La nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer (Balachowsky, 1963).</p>
<p>D</p> 	<p>allongé, d'une longueur comprise entre 2,6 et 4,4 mm ; couleur brun-rougeâtre ; antennes équipées de massues flottantes, indistinctes, à 5 ou 6 articles, qui peuvent être absentes ; crête évidente au-dessus de chaque œil (Balachowsky et Mensil, 1936).</p>

I.5.1.1.6. Distinction des sexes du *Tribolium castaneum* Herbst

La distinction des sexes peut être réalisée d'une façon pratique et aisée à l'aide de la binoculaire à partir de la nymphe. La femelle possède à la face ventrale, au dessus de la paire d'urogomphes à extrémité très aigüe et brun foncé, deux petites cornes qui, chez le mâle, se réduisent à une légère protubérance déprimée au centre (Balachowsky et Mensil., 1936).

D'autres caractères peuvent intervenir dans la détermination du sexe chez cette espèce : il s'agit de la taille. Cette dernière est un peu plus importante chez la femelle que chez le mâle, cependant ce caractère reste peu fiable. Pour plus de vigueur, l'examen des armatures génitales chez les deux sexes serait plus précis (Bounaceur., 1992).

I.5.1.1.7. Biologie de *Tribolium castaneum*

L'accouplement des adultes a lieu 48 heures après l'émergence des imagos et dure environ 15 minutes. La ponte commence le troisième jour après l'émergence et s'échelonne durant toute la vie de la femelle. La durée de l'embryogenèse est fonction de la température. Elle dure neuf jours en moyenne à 22 °C, alors qu'elle n'est que de 3,5 jours en moyenne à 28 °C, la durée d'incubation des œufs est plus courte, elle est de 2,6 jours à 35 °C et 85% d'humidité relative. Dès l'éclosion, la jeune larve se montre active : elle sillonne la denrée dans tous les sens. Elle subit au total huit à neuf mues. La taille des larves constitue un critère essentiel pour la distinction des différents stades larvaires. La durée des stades larvaires varie en fonction de la température et de l'humidité, elle est plus longue à 28°C et 75 % HR qu'à 35°C et 85 %HR (Bounaceur., 1992).



Figure 1.6. Tribolium brun de la farine *Tribolium castaneum* (Sinha, Watters, 1985 In Dellil, 2011).

I.5.1.1.8. Régime alimentaire et dégâts

Le Tribolium recherche surtout les denrées amylacées pulvérulentes comme la farine, le son, ... etc. (Lepesme, 1944). Les adultes sécrètent une substance nauséabonde, riche en quinones qui communique au lot infesté une odeur particulièrement désagréable. Sa présence dans les céréales, engendre de sérieuses altérations biochimiques qui provoquent l'augmentation des acides gras libres dans les stocks (Khare et al., 1974).

D'après Steffan in Scotti (1978), ils sont très polyphages, ce sont des cléthrophages secondaires, car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures, elles attaquent les grains endommagés, escortent souvent les charançons ou parachèvent leurs dégâts (Figure 1.8).

Les pertes pondérales sont donc d'autant plus importantes que le lot infesté contient un pourcentage élevé en grains cassés ou entamés par d'autres insectes (Steffan, 1978) et la valeur commerciale va également diminuer par la présence d'exuvies et de cadavres (Fleurat Lessard., 1991).

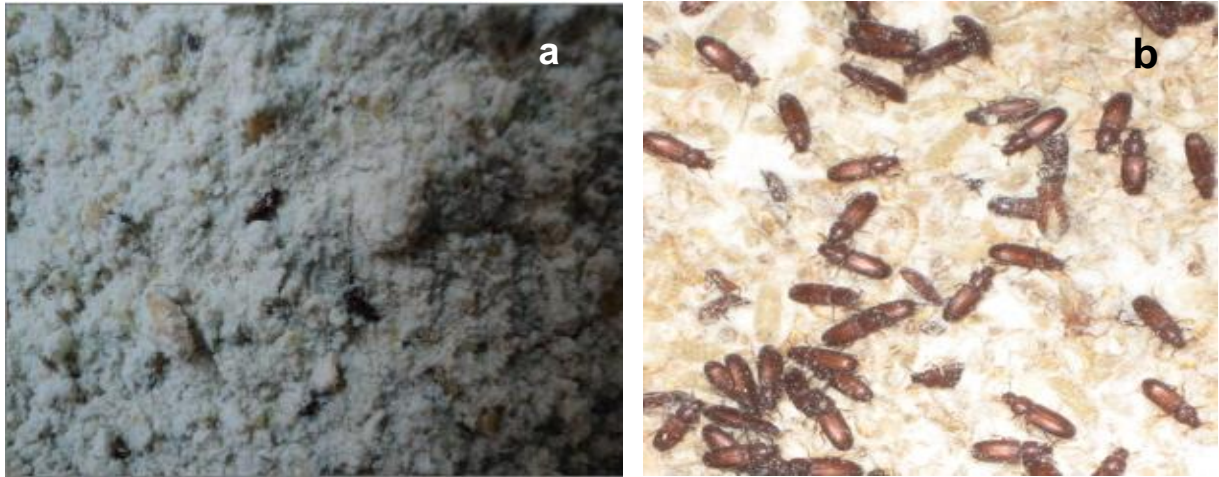


Figure I.7. Dégâts de *Tribolium castaneum*, a (Original.; 2013), b (Julio., 2011).

I.5.1.1.9. Les ennemis naturels

Certains arthropodes particulièrement les acariens, tels que : *Pediculoides ventricosus* Nemp. *Acarophenax tribolu* Nemp. Et Duval (Lepesme ,1944). Tendent à limiter l'activité de *Tribolium*, deux hyménoptères de la famille des bethylides parasitant les larves sont: *Rhabdepyris zea* Turu et *Waterst. Sleroderma immigrans* Bridw.

I.6. Les moyens de lutte utilisée en stocks

Les insectes des stocks, sont des ravageurs très redoutés, car leur présence est néfaste et déprécie la denrée quel que soit leur nombre. De ce fait plusieurs moyens de lutte sont utilisés en lieux de stockage. La lutte chimique ; la lutte physique et la lutte biologique. Cependant, il est important de souligner que la réussite d'un stockage repose sur les moyens prophylactiques (Multon., 1982).

I.6.1. La lutte chimique

Actuellement, c'est la méthode la plus répandue en raison de son efficacité. Elle consiste à employer des pesticides pour lutter contre les déprédateurs, cependant elle doit être appliquée avec discernement en raison des risques de toxicité qu'elle peut engendrer aux consommateurs du grain.

Cette lutte est essentiellement utilisée par contact direct des insecticides qui pénètrent dans les tissus de l'insecte après avoir traversé la cuticule (Champ et Dyte., 1976) ou par fumigation qui consiste à utiliser des gaz toxiques pour désinsectiser une denrée dans un espace clos. Les enceintes de fumigation, doivent être suffisamment étanches pour que le gaz pénètre et puisse diffuser entre et dans les grains afin de tuer les insectes présents, ceci quel que soit leur stade de développement (Ducomp., 1978).

I.6.2.La lutte physique

Elles concernent toutes les techniques mécano-thérapeutiques susceptibles de rendre le stock sain. En général, ces techniques ne sont pas efficaces contre les formes cachées. Elles sont recommandées pour pallier aux problèmes des résidus chimiques liés aux différents traitements chimiques appliqués aux denrées stockées. Ainsi plusieurs techniques ont été expérimentées et ont eu des succès divers le traitement par le froid et le chaud, le stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée et les radiations ionisantes. (Multon., 1989).

I.6.3.La lutte biologique

Ces dernières décennies, la protection de l'environnement s'impose de plus en plus comme une préoccupation mondiale majeure. Le concept de lutte biologique a subi une évolution au cours du temps et intègre dans sa définition actuelle toutes les formes non chimiques de contrôle des ravageurs des récoltes mais aussi des mauvaises herbes (Mann J., 1987).

La méthode classique de lutte biologique par utilisation de micro-organisme, de prédateurs, de parasitoïdes et de substances naturelles d'origine végétale a fait que les industries agrochimiques orientent de plus en plus leur effort vers l'étude de produits pour la recherche de nouveaux insecticides botaniques qui sont basés sur l'utilisation de substances naturelles d'origine végétale (Addor., R.W., 1995). Les huiles essentielles des plantes font partie des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs. Leur application dans la protection des stocks a fait l'objet de nombreux travaux (Gwinner et *al.*, 1996).

I.6.3.1.Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants, appelées également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur. (Evans., 1998).

L'extraction de ces composés volatils se fait le plus souvent par distillation à la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et par expression. Pour ce dernier la pharmacopée précise que ce type de procédé est réservé que pour les essences du genre citrus (Bruneton., 1999).

I.6.3.1.1.Répartition et localisation des huiles essentielles

Parmi les espèces végétales 800 000 à 1500 000 selon les botanistes, 10 % seulement sont dites aromatiques. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont presque exclusivement de l'embranchement des Spermaphytes. Les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles comme les : Lamiaceae, Lauraceae, Asteraceae, Rutaceae, Myrtaceae, Poaceae, Cupressaceae, Piperaceae (Bruneton, 1999).ces dernières sont considérées comme étant les plus prometteuses comme source de bioinsecticides.

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. A l'exception de celle du bouton florale du giroflier où le rendement en huile essentielle atteint largement les 15% (Makhlouf., 2002).

I.6.3.1.2.Fonctions biologiques et rôle des huiles essentielles

Bien que de nombreuses hypothèses aient été avancées pour expliquer les raisons de la synthèse de l'essence par la plante, nul ne sait avec exactitude pourquoi la plante fabrique son essence. Mais ce qui est probable c'est que le rôle des huiles essentielles au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation (Richard., 1992).Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement.

Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs.

I.6.3.1.3.Variabilité des huiles essentielles

La composition et le rendement des huiles essentielles peuvent varier selon l'âge, le cycle végétatif de l'organe, et le mode d'extraction, les facteurs climatiques et la nature du sol. En effet, de profondes modifications s'opèrent lors du séchage, du stockage, de l'extraction et du conditionnement (Evans., 1998).

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate (Bruneton., 1993). Les huiles essentielles doivent être stockées à basse température (entre 08°C et 25°C) ; dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence. De plus les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche et la durée de conservation admise est de 02 à 05 ans.

I.6.3.2.Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a conduit à une élimination spectaculaire, du moins à court terme les organismes nuisibles et à une détérioration parallèle, mais pas nécessairement visible de la qualité de l'environnement; ce qui a mené à beaucoup de conséquences négatives (résistance des ravageurs aux insecticides, toxicité sur la faune auxiliaire, problèmes de résidu, pollution environnementale) (Isman., 2005). Cependant, les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs (Kim et al., 2003). Les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes (Shaaya et al., 1997).

La toxicité des huiles essentielles s'exprime de différentes manières: activités ovicide, larvicide, antinutritionnelle et inhalatoire (Regnault-Roger, 2002). Mis à part l'inhibition de l'éclosion des œufs, les vapeurs d'huiles essentielles accroissent la mortalité des larves (Kéïta et al., 2000).

Papachristos et al. (2002) ont démontré la toxicité de *Lavandula hybrida*, *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus globulus* sur les œufs de *Acanthoscelides obtectus* avec une différence de sensibilité significativement corrélée à l'âge.

C'est au-delà de trois jours que la sensibilité est la plus forte, probablement à cause d'une plus grande perméabilité du chorion ou de la membrane vitelline facilitant ainsi la diffusion des vapeurs. Ogendo et al. (2008) ont quant à eux démontré la toxicité des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum* L. à $1\mu\text{l.l}^{-1}$ sur *Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus surinamensis* et *Cryptocarya. chinensis* (L.) avec des taux de mortalité de 98 à 100 % en 24 h.

I.6.3.2.1. Activité insecticide des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion 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). L'objectif est d'améliorer les techniques traditionnelles basées sur l'utilisation des ressources végétales renouvelables pour une meilleure gestion des déprédateurs dans les stocks de plus grande importance. Certaines observations ont montré que l'extrait brut éthanolique (Tierto-Nieber et al., 1992), hexanique (Nuto., 1995) ou à l'éther de pétrole (Gakuru et Foua-bi., 1996) de matériel végétal possède une toxicité effective vis-à-vis des ravageurs de stocks. D'autres résultats indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* F. (Glitho et al., 1997; Gakuru et Foua-bi., 1995). Ces huiles essentielles agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile.

Les espèces de la famille de Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Labiateae et Canellaceae sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bioinsecticides (Jacobsen M., 1989). Parmi plusieurs huiles essentielles, celles de la famille des Labiateae ont reçu une attention considérable dans la recherche des produits naturels pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées (Mansour F et al., 1986),

La même famille a fait l'objet de plusieurs études et ils ont montré que les espèces aromatiques sont les plus utilisées pour lutter contre les insectes (Lambert J et al., 1985, Morton J.F., 1981, Shaaya E et al., 1997, Lawrence, B.M., 1988).

I.6.3.2.2.Toxicité des huiles essentielles (notion de la DL50)

Les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale, la majorité de celles qui sont couramment utilisées ont une DL 50 comprise entre 2 et 5 g/Kg (anis, eucalyptus, girofle, etc...), ou ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/Kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc...). Les mêmes observations peuvent être faites pour les constituants des huiles essentielles, rares en effet sont ceux qui ont une DL 50 < 2 g/Kg comme exemple la thuyone 0.2 g/Kg (armoise), pulégone 0.47 g/Kg (menthe pulgume) et carvone 1.64 g/Kg (Menthe verte) (Bruneton., 1999).

CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1.Objectif

L'objectif de ce travail consiste à tester l'activité biocide de deux formulations biologiques de texture poudreuse : l'une étant une huile essentielle de Lavande et l'autre d'Eucalyptus appliqués à différentes doses sur un ravageur redoutable des denrées stockées, le *Tribolium castaneum* (Herbst) qui est soumis à deux températures différentes.

II.2. Matériel d'étude

II.2.1. Préparation du Matériel animal

Le matériel biologique destiné à l'évaluation de l'efficacité des produits appliqués est limité aux individus de la souche de *Tribolium castaneum* (Herbst) originaire des stocks de farine de maisons.



Figure II.1. Présentation de *Tribolium castaneum* (Original 2013)

(a) : Adulte vue dorsale, (b) : Adulte vue ventrale, (c) : Larve

Selon la méthode décrite par Laviolette et Nardon (1963), un élevage de *T. castaneum* a été réalisé dans des bocaux en verre contenant 250 g. de farine commerciale.

Chaque bocal est infesté par 60 adultes de *T. castaneum* et refermé par un filet à fines mailles maintenu par un élastique pour permettre la respiration des insectes. L'ensemble placé dans une étuve ventilée de marque MERMMET, obscure et réglée à une température de 30°C et cela pendant une durée de deux mois.

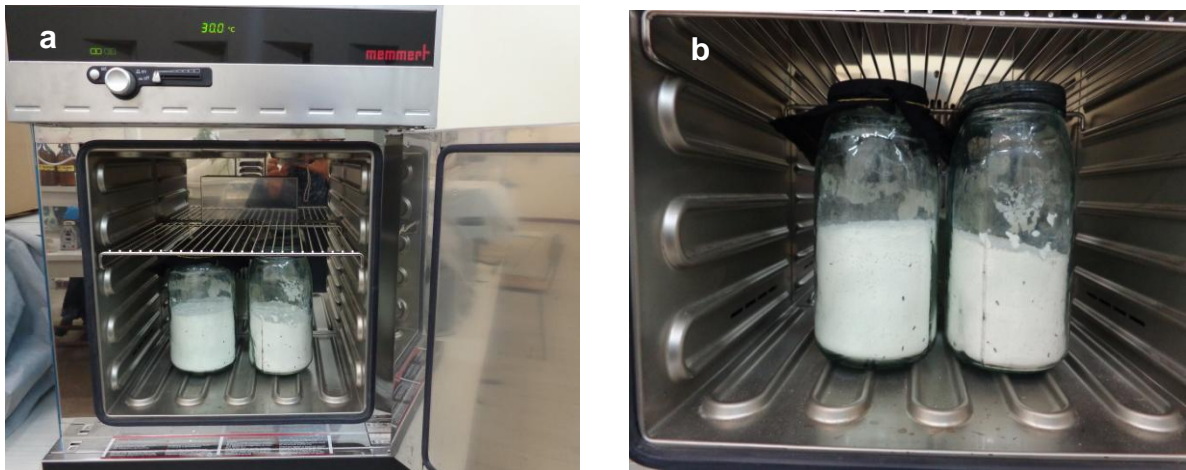


Figure II.2. Dispositif d'élevage du matériel biologique des bio-essais (Original 2013) (a) : Etuve d'élevage, (b) : Bocaux d'élevage

II.2.2. Préparation de matériel végétal

Les traitements utilisés lors de notre étude sont des biopesticides formulés à base de deux huiles essentielles issues de deux plantes aromatiques : la première étant l'Eucalyptus officinal (*Eucalyptus Globulus*) et la Lavande aspic (*Lavandula latifolia spica*).



Figure II.3. Présentation du matériel végétal

(a) : l'Eucalyptus officinal (original 2013), (b) : Lavande aspic (André P., 1946)

II.2.3. La formulation

Les deux huiles essentielles de l'Eucalyptus et de la Lavande ont été formulées sur un support inerte de texture poudreuse à largage graduel dans le

temps. Ces bioproduits ont été préparés par Mr MOUSSAOUI K. doctorant au laboratoire de phytopharmacie appliquée du département d'Agronomie de l'Université de Blida.

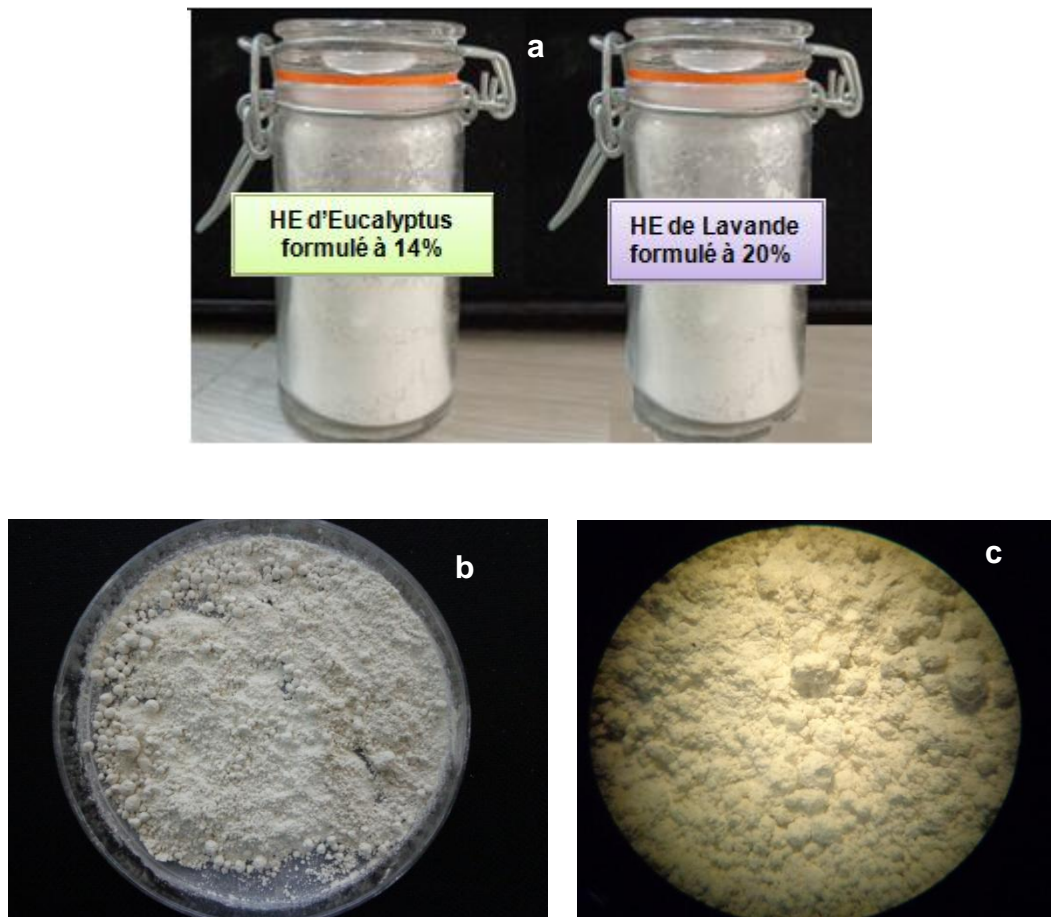


Figure II.4. Présentation des biopesticides utilisés

- (a) : Formulation solide à base d'H.E., (b) : Formulation solide à base d'H.E à l'œil nu,
(c) : Formulation solide à base d'H.E sous la loupe binoculaire (GX 10)

II.3. Méthodes d'étude

II.3.1. Dispositif expérimental des bio-essais

Notre expérimentation a été réalisée au sein de laboratoire de Phytopharmacie au niveau du Département des Sciences Agronomiques -Université SAAD DAHLAB- (BLIDA).

A partir du matériel biologique arrêté nous avons essayé d'estimer l'impact de la température, la dose et l'activité biocide des deux formulations à base de deux huiles essentielles de Lavande et d'Eucalyptus sur les populations de *T. castaneum*.

A l'aide d'une balance de précision nous avons pesé 10 g. de farine commerciale qu'on a mis dans des boîtes de pétri en plastique de 9 cm de diamètre à laquelle nous avons ajouté le produit biologique formulé préalablement pesé selon la dose préconisée à savoir D1 (0,5 g.) ; D2 (1 g.) et D3 (1,5 g.) puis le mélanger à la farine pour une bonne homogénéisation.

20 individus à savoir 10 adultes et 10 larves du *T.castaneum* sont prélevés du bocal d'élevage à l'aide d'une pince puis placés séparément dans les préparations des boîtes de pétri. Ces dernières sont immédiatement refermées et entourées de parafilm afin d'éviter les pertes des essences volatiles et assurer une bonne efficacité du traitement.

Pour estimer l'influence des températures sur le produit formulé, les boîtes ainsi finalisées sont alors marquées par un feutre indélébile et placées dans l'étuve à deux températures différentes soit 25°C et 30°C. L'évaluation de l'effet biocide du traitement biologique formulé sur les individus de *T.castaneum* a été réalisée par un comptage effectué chaque 2 heures pendant une durée de 52 heures. Cette technique a été répétée 3 fois pour chaque dose utilisée.

Le même procédé que celui suivi pour estimer l'effet biocide de l'huile essentielle d'Eucalyptus a été appliqué pour celui de l'huile essentielle de Lavande.

II.3.2. Estimation du taux de mortalité et de perturbation

Selon Marmonier *et al* (2006), le taux de mortalité est le taux de disparition d'individus dans des conditions d'environnement données (varie en fonction de la population considérée et des facteurs du milieu). Il est donné par la diminution de la population par mortalité/ variation du temps.

$$n = \frac{\Delta N}{\Delta t}$$

avec :

ΔN : augmentation de la population par les naissances

Δt : variation du temps

II.3.3. Estimation de la mortalité corrigée

L'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tué par ce toxique.

Il existe, en fait dans toute population traitée une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique, les pourcentages de mortalité doivent être corrigés par la formule d'ABBOTT (1925).

II.4. Analyse statistique des résultats

II.4.1. Analyses multivariées (PAST vers. 1.6, HAMMER *et al.*, 2001)

Dans le cas de variables quantitatives, les relations multivariées sont étudiées à l'aide d'une analyse en composante principale (A.C.P.) (Ter Braak et Prentice., 1988). Dans cette analyse, l'activité biocide est évaluée selon le stress opéré sur les individus de *Tribolium castaneum*. A partir des deux premiers axes de l'analyse factorielle, une classification ascendante hiérarchique des périodes est réalisée dans le but de détecter l'activité précoce et tardive des différentes formulations.

II.4.2. Analyses de la variance (SYSTAT vers. 7, SPSS 2009)

Lorsque le problème est de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (Types de formulations, dose du principe actif, temps d'expression de l'effet biocide, etc...), il est préconisé de réaliser une analyse de variance.

Dans les conditions paramétriques (ANOVA pour *ANalysis Of VAriance*), la distribution de la variable quantitative doit être normale. Dans certains cas, une transformation logarithmique a été nécessaire afin de normaliser cette distribution. Lorsque plus de 2 modalités interviennent par facteur, nous avons appliqué en outre le test de Tukey qui intervient après l'ANOVA. Il permet de vérifier la significativité de la variable d'intérêt entre toutes les combinaisons des modalités. Dans les cas où aucune transformation ne parvient à normaliser la distribution, une analyse de variance en condition non paramétrique a été effectuée (test de Kruskal-Wallis). Dans les cas où plusieurs facteurs sont en jeu, il peut arriver que toutes les interactions entre facteurs ne soient pas pertinentes à tester. Nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.).

CHAPITRE III : RÉSULTATS

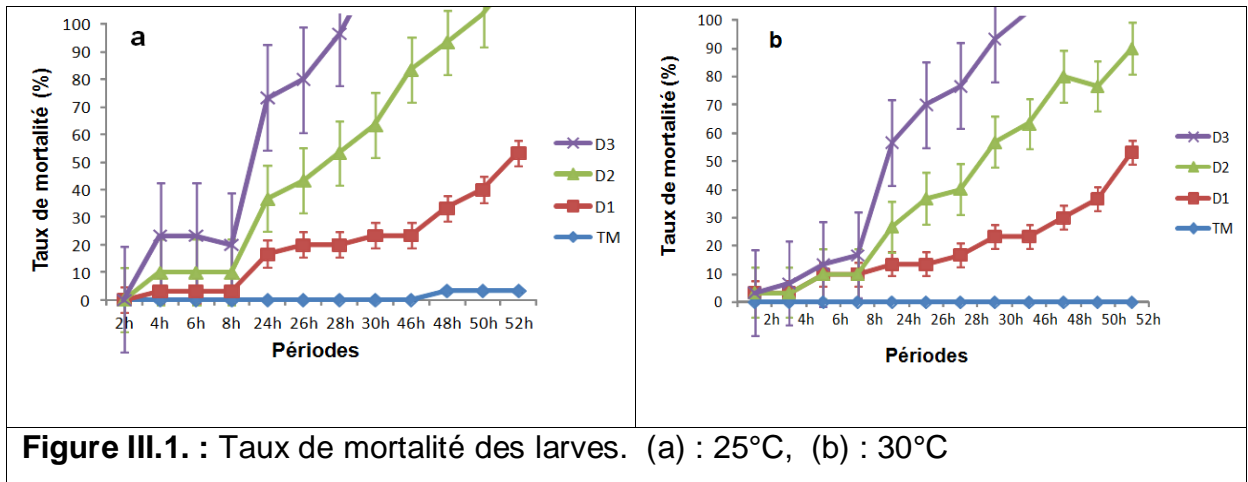
Dans ce chapitre, on a essayé d'analyser tous les résultats correspondants à l'impact des deux formulations biologiques d'huiles essentielles à base d'Eucalyptus et de Lavande sur le taux de mortalité et de perturbation des populations de *Tribolium castaneum* ainsi que leur mortalité corrigée.

III.1. Evaluation de l'effet létal et perturbateur des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de *Tribolium castaneum*

III.1.1.Évaluation temporelle du taux de mortalité des différentes formes biologiques du *Tribolium castaneum* sous l'effet de l'huile essentielle formulée à base de Lavande

Le taux de mortalité des différentes formes biologiques (larves et adultes) est estimé en fonction du temps (heures), des températures (25°C 30°C) et des différentes doses appliquées à savoir D1 (0.5g). D2 (1g) et D3 (1.5g).

L'huile essentielle de Lavande appliquée sur les larves de *T. castaneum* soumises à la température de 25°C ou 30°C s'est révélée faiblement toxique en début de traitement (après 4h) mais fortement toxique à la fin de l'essai. Concernant les doses, tous les traitements ont montré une toxicité progressive dans le temps. D3 s'est révélée la plus efficace avec un taux de mortalité de 100% suivie de D2 et enfin de D1 (Figure III.1 a,b).



En revanche, la mortalité des larves soumises à température de 25°C ont enregistré une avance de 8h par rapport à celles de 30°C.

Contrairement aux larves, les adultes se trouvent moins sensibles aux traitements de l'huile essentielle de Lavande en enregistrant un faible taux de mortalité ne dépassant pas les 40%. Mais, la température de 25°C a accumulé un retard de toxicité de 22H par rapport à celle de 30°C (Figure III.2 a,b). De même que pour les larves, la dose D3 présente la plus forte toxicité par rapport aux autres doses. Un taux de mortalité naturelle très réduit a été consigné pour les témoins qui n'ont subi aucun traitement.

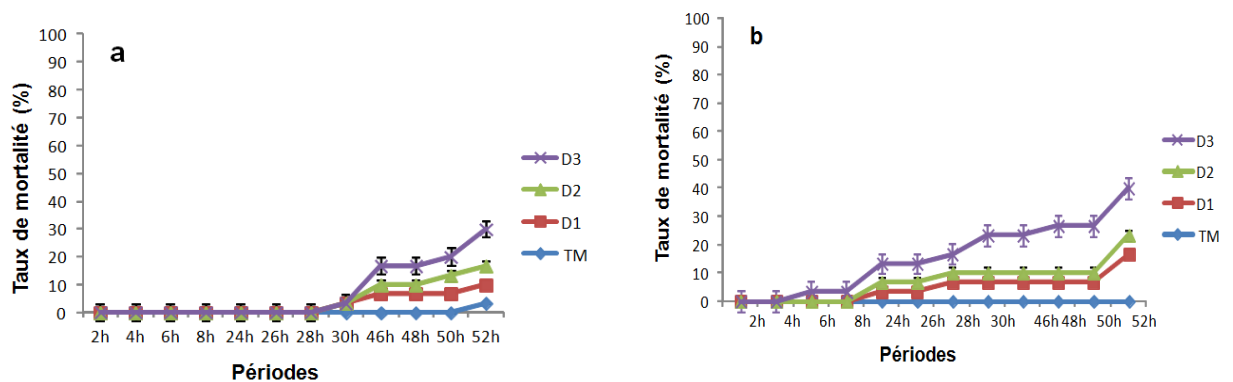


Figure III.2. : Taux de mortalité des adultes. (a) : 25°C, (b) : 30°C

III.1.2.Évaluation temporelle du taux de perturbation des adultes de *Tribolium castaneum* sous l'effet d'huile essentielle formulée à base de Lavande

La perturbation des adultes par l'HE de Lavande à température de 30°C présente un effet majeur. Par rapport à la celle de 25°C qui inscrit un retard de 4 heures.

Pour les deux températures, toute les doses appliquées on montrée un effet temporel progressif sur le taux de perturbation jusqu'à la fin de suivi, on marquant la dose D3 comme étant la plus perturbatrice, et une perturbation très réduite dans le témoin (Figure III.3 a,b).

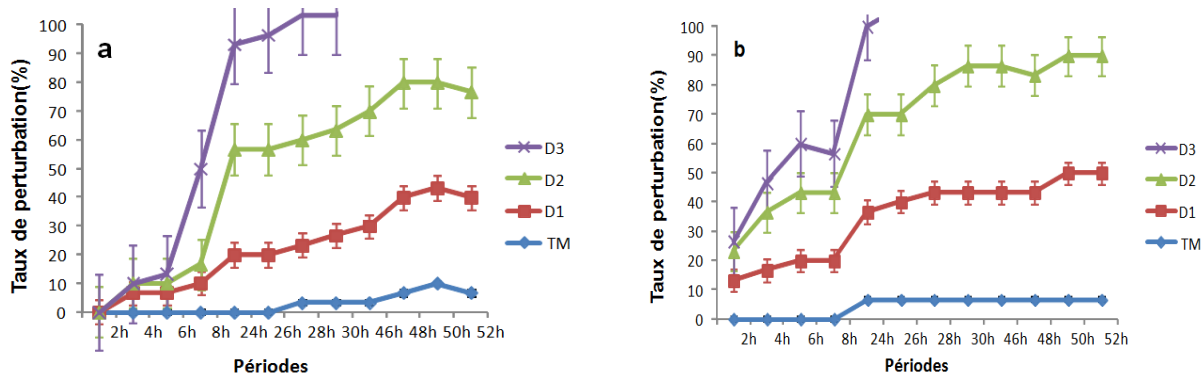


Figure III.3. : Taux de perturbation. (a) : 25°C, (b) : 30°C

III.1.3.Évaluation temporelle du taux de mortalité des formes biologiques de *Tribolium confusum* sous l'effet d'huile essentielle à base d'Eucalyptus

Les résultats obtenus, à température 25°C ou 30°C, ont montré un effet de choc sur les larves du *T. castaneum* en enregistrant dès le début des traitements un important taux de mortalité qui aboutira à une mortalité totale après une durée de 4 h après traitement pour la dose D3 et une durée de 6h pour la dose D2.

La différence des températures se manifeste au niveau de la dose D1 qui présente une toxicité progressive avec un taux de mortalité plus élevé à 30°C atteignant le 100% de mortalité après 52h alors qu'à 25°C et à la même période, on n'a obtenu que 80% de taux de mortalité(Figure III.4 a,b). Contrairement aux larves,

les adultes se trouvent plus tolérants aux traitements de l'huile essentielle d'Eucalyptus formulée en enregistrant un effet plus tardif (Figure III.4,5).

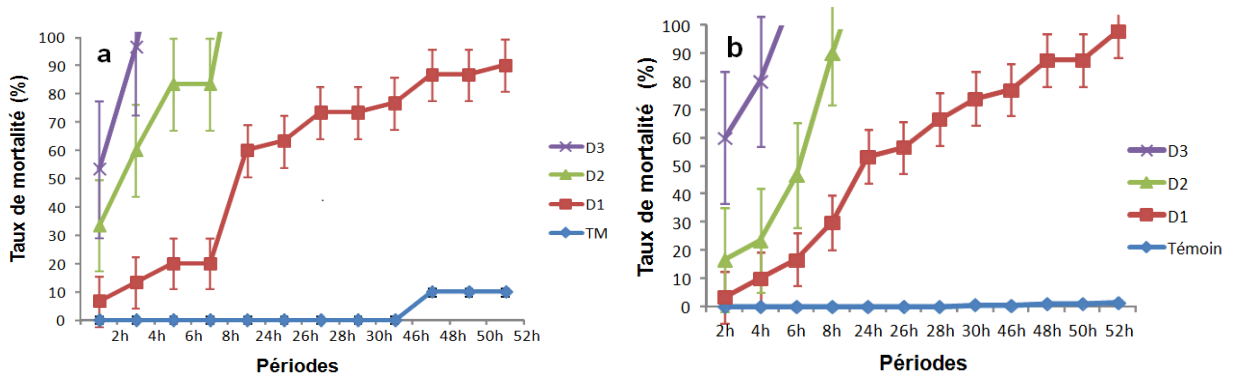


Figure III.4. : Taux de mortalité des larves. (a) : 25°C, (b) : 30°C

Un écart d'efficacité de l'huile essentielle d'Eucalyptus formulée appliquée sur les adultes de *T. castaneum* soumis à la température de 25°C et 30°C s'est établi. Toutefois, à 25°C, la mortalité totale des individus traités par la dose D3 a été obtenue avant 8h de traitement contrairement à celle de 30°C qui n'a été marquée qu'avant 24h. Comparée à la D3, la dose D2 démontre un effet tardif mais à 25°C, la mortalité totale des individus est atteinte avant la fin du suivi tandis qu'à 30°C, celle-ci n'est pas atteinte. La dose D1 reste la moins efficace avec un taux de mortalité de 30% pour les deux températures (Figure III.5 a,b).

Concernant les doses, tous les traitements ont montré une toxicité progressive dans le temps. D3 s'est révélée la plus efficace avec un taux de mortalité de 100% suivie de D2 et enfin de D1. En revanche, la mortalité des larves soumises à température de 25°C ont enregistré une avance de 8h par rapport à celles de 30°C (Figure III.5 a,b).

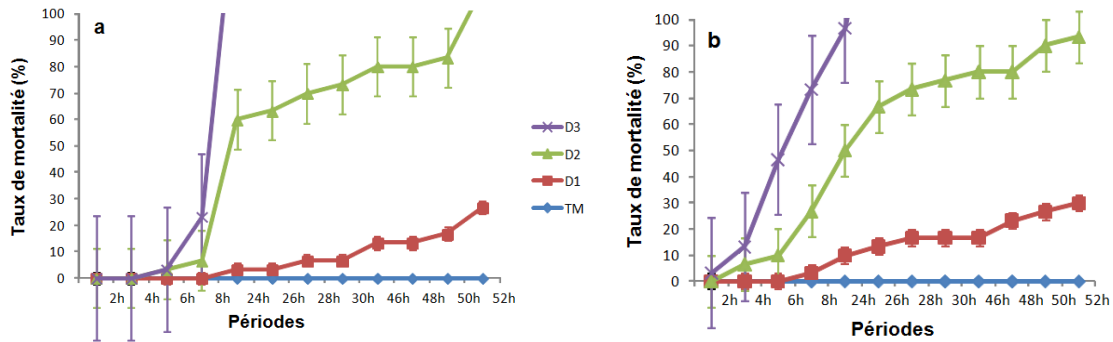


Figure III.5. : Taux de mortalité des adultes. (a) : 25°C, (b) : 30°C

III.1.4.Évaluation temporelle du taux de perturbation des adultes de *Tribolium castaneum* sous l'effet de l'huile essentielle formulée à base d'Eucalyptus

Les résultats de l'effet perturbateur de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* formulée appliquée sur des adultes de *T. castaneum* soumises à la température de 25°C ou 30°C s'est révélée fortement perturbatrice en début de traitement (avant 6 h) mais faible à la fin de l'essai.

En revanche, la perturbation des individus soumises à température de 30°C ont enregistré dès l'application du traitement un effet avancé mais à moindre taux par rapport à celle de 25°C qui a affichée un pic de 90%(Figure III.6 a,b). Un taux de perturbation naturelle très réduit a été consigné pour les témoins qui n'ont subi aucun traitement à la fin du suivi. Les dose D3 se montre la plus perturbatrice suivie de D2 et enfin D1 qui présente l'effet le plus faible (Figure III.6.).

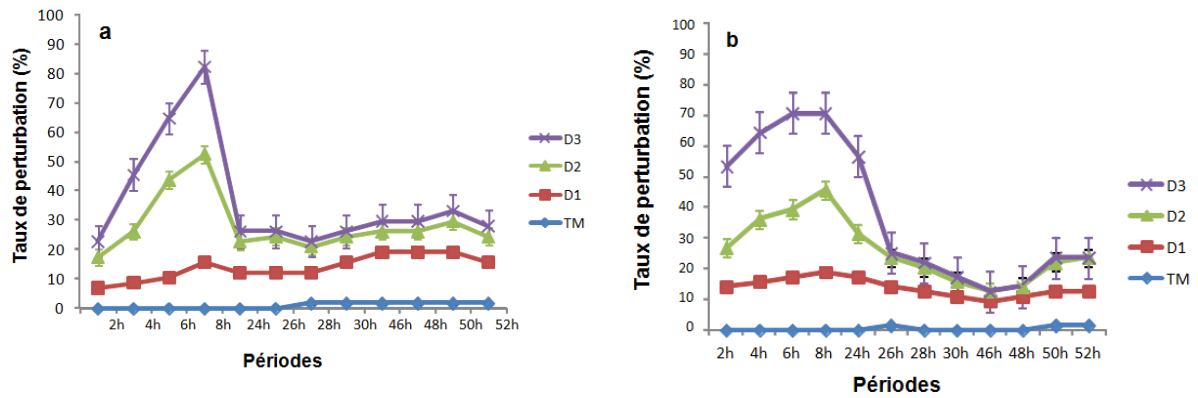


Figure III.6 : Taux de perturbation. (a) : 25°C, (b) : 30°C

III.2.Evaluation de l'effet létal et perturbateur corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de *Tribolium castaneum*

III.2.1.Évaluation temporelle de mortalité corrigée et de perturbation corrigée des formes biologiques de *Tribolium castaneum*

III.2.1.1.Sous l'effet de l'huile essentielle à base de Lavande

Les graphes de l'évaluation de la mortalité du traitement par l'huile essentielle de Lavande sur les adultes et les larves à température 25°C et 30°C présentent la même tendance que celle de taux de mortalité avec un effet comparable.

Pour les larves, la mortalité corrigée commence par une faible mortalité pour progresser et s'accroître à la fin de suivi. Cependant la D3 reste la plus efficace (Figure III.6.).

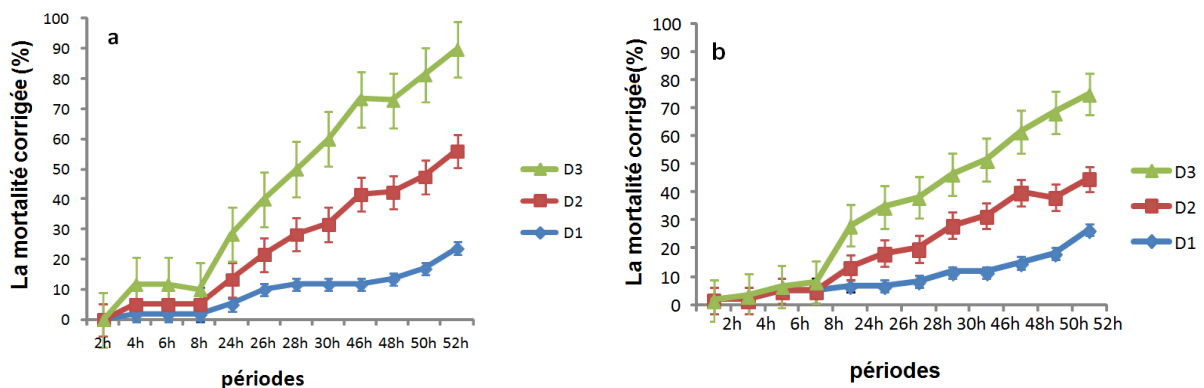


Figure III.6. : Mortalité corrigée des larves. (a) : 25°C, (b) : 30°C

Concernant les adultes de *T. castaneum*, les résultats de la mortalité corrigée signalent à température 30°C que l'huile essentielle de Lavande formulée est nettement activée qu'à partir de 28h après traitement, alors qu'à 25°C son activité est nettement avancée de 4h (Figure III.7).

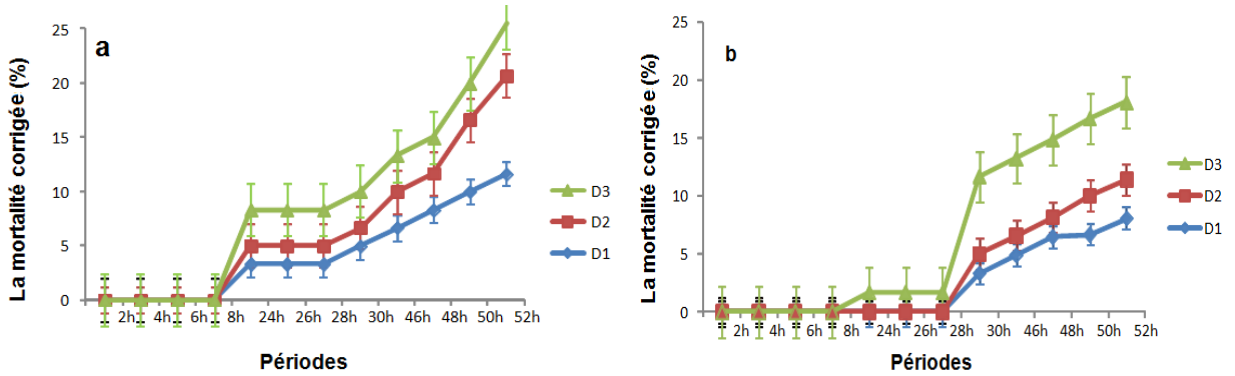


Figure III.7. : Mortalité corrigée des adultes. (a) : 25°C, (b) : 30°C

Les résultats obtenus montrent une progression de la perturbation corrigée des adultes qui ne dépasse pas 50% durant toute la période d'essais pour les deux températures.

Concernant la température 25°C inscrit un effet retard par rapport à celle de 30°C. Cependant la dose 3 reste la plus perturbatrice pour les deux températures suivie la dose2 et enfin la dose1 (Figure III.8 a, b).

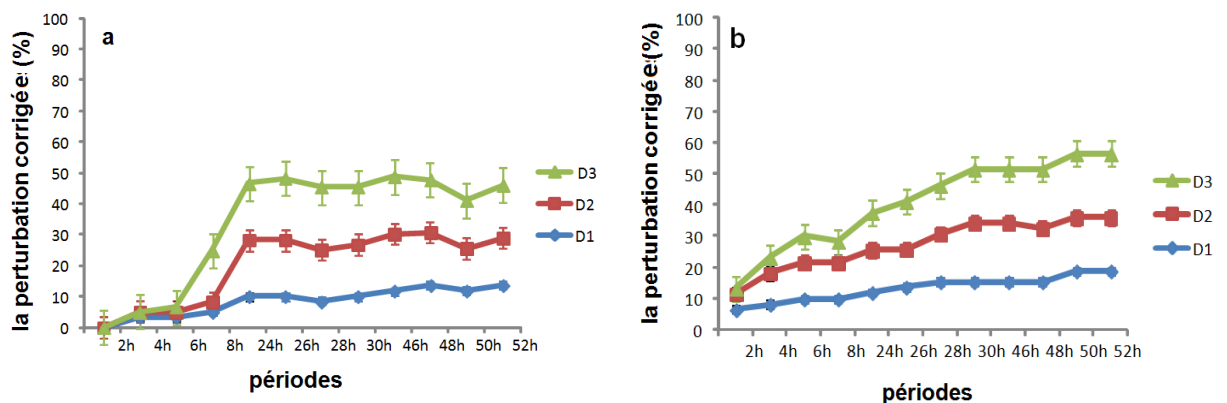


Figure III.8.: Perturbation corrigée des adultes. (a) : 25°C, (b) : 30°C

III.2.1.2. Sous l'effet de l'huile essentielle formulée à base d'Eucalyptus

D'après les résultats obtenus, l'application de l'huile essentielle d'Eucalyptus formulée sur les larves de *T. castaneum* soumises à la température de 25°C ou 30°C montre un effet progressif durant toute la période du suivi. Concernant les doses, D3 s'est révélée la plus efficace en affichant la mortalité totale avant 24h, suivi par la dose D2 et la dose D1 (Figure III.9 a,b).

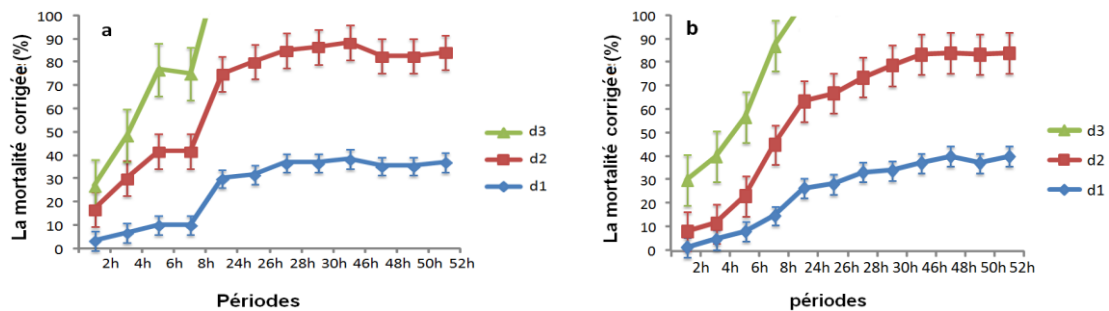


Figure III.9. : Mortalité corrigée des larves. (a) : 25°C, (b) : 30°C

A l'opposé aux larves, les adultes se trouvent moins sensibles aux traitements de la formulation d'huile essentielle d'Eucalyptus en enregistrant un fort taux de mortalité corrigée qui abouti au 100% à 52h soit la fin de l'essai. En revanche, les doses agissent de la même manière dans les deux températures (25°C ,30°C). (Figure III.10 a,b).

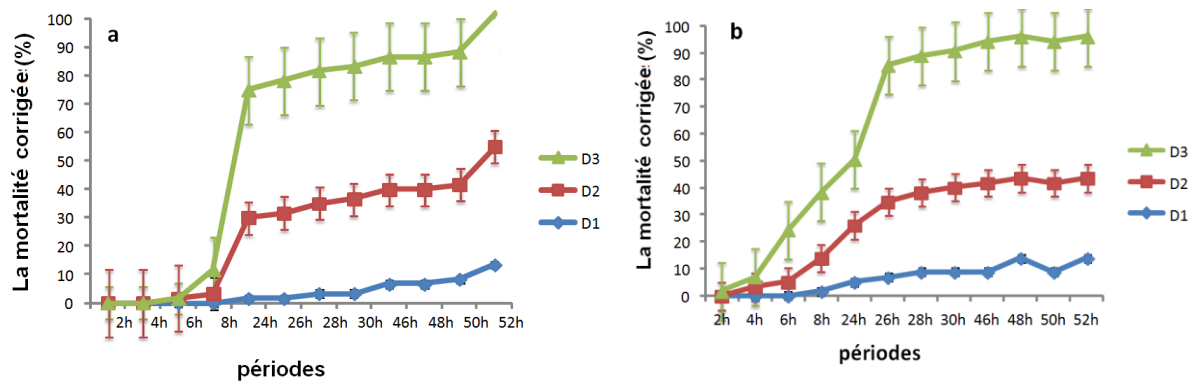


Figure III.10 : Mortalité corrigée des adultes. (a) : 25°C, (b) : 30°C

D'après les présentations graphiques de la perturbation corrigée des adultes de *Tribolium castaneum* soumises à température de 30°C, on constate que dès l'application du traitement, un effet perturbateur plus important par rapport à celle de 25°C.

Quant aux doses, la D3 et D2 démontrent une forte action de perturbation dans la première période de suivi (avant 8h) contrairement à la D1 qui présente le plus faible effet (Figure III.11).

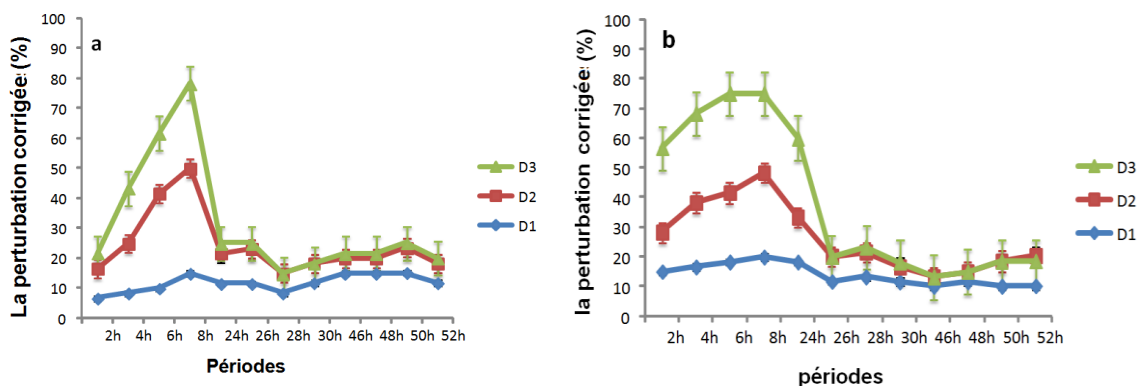


Figure III.11. : Perturbation corrigée des adultes. (a) : 25°C, (b) : 30°C

III.3. Tendence de l'efficacité des différentes formulations d'huiles essentielles sur les formes biologiques de *Tribolium castaneum*

L'analyse en composantes principales est satisfaisante pour l'ensemble des paramètres étudiés dans la mesure où plus de 90% de la variance sont exprimés sur les 2 premiers axes.

Ce test traduit l'effet de chaque traitement biologique et exprime sur les deux axes de l'ACP, que les différentes formulations de l'huile essentielle et leurs doses ont un effet tardif et différent sur les formes biologiques (larves et adultes) de *T. castaneum*.

La projection des vecteurs relatifs à la mortalité corrigée des larves et des adultes sur le premier axe 1, montre que toutes les molécules accusent une mortalité tardive et cela pour toutes les doses expérimentées. Cette tendance est soutenue par l'établissement d'une corrélation positive.

La projection des vecteurs sur l'axe 2, indique une discrimination d'effet entre les deux molécules. Les corrélations négatives établies affichent nettement la forte

toxicité de la formulation à base d'HE d'*Eucalyptus* par comparaison à l'effet toxique de la formulation à base d'HE de Lavande. La suprématie de la formulation à base d'*Eucalyptus* est confirmée par l'extériorisation d'efficacité dès 24 h est cela sous toutes les doses expérimentées.

La visualisation de l'extériorisation des effets toxiques sous les différentes températures, montre que la mortalité s'exprime mieux sous température élevée (30°C) est cela pour les deux formulations sauf que l'effet toxique est un peu tardif sous formulation d'HE de Lavande (Figure III.12.).

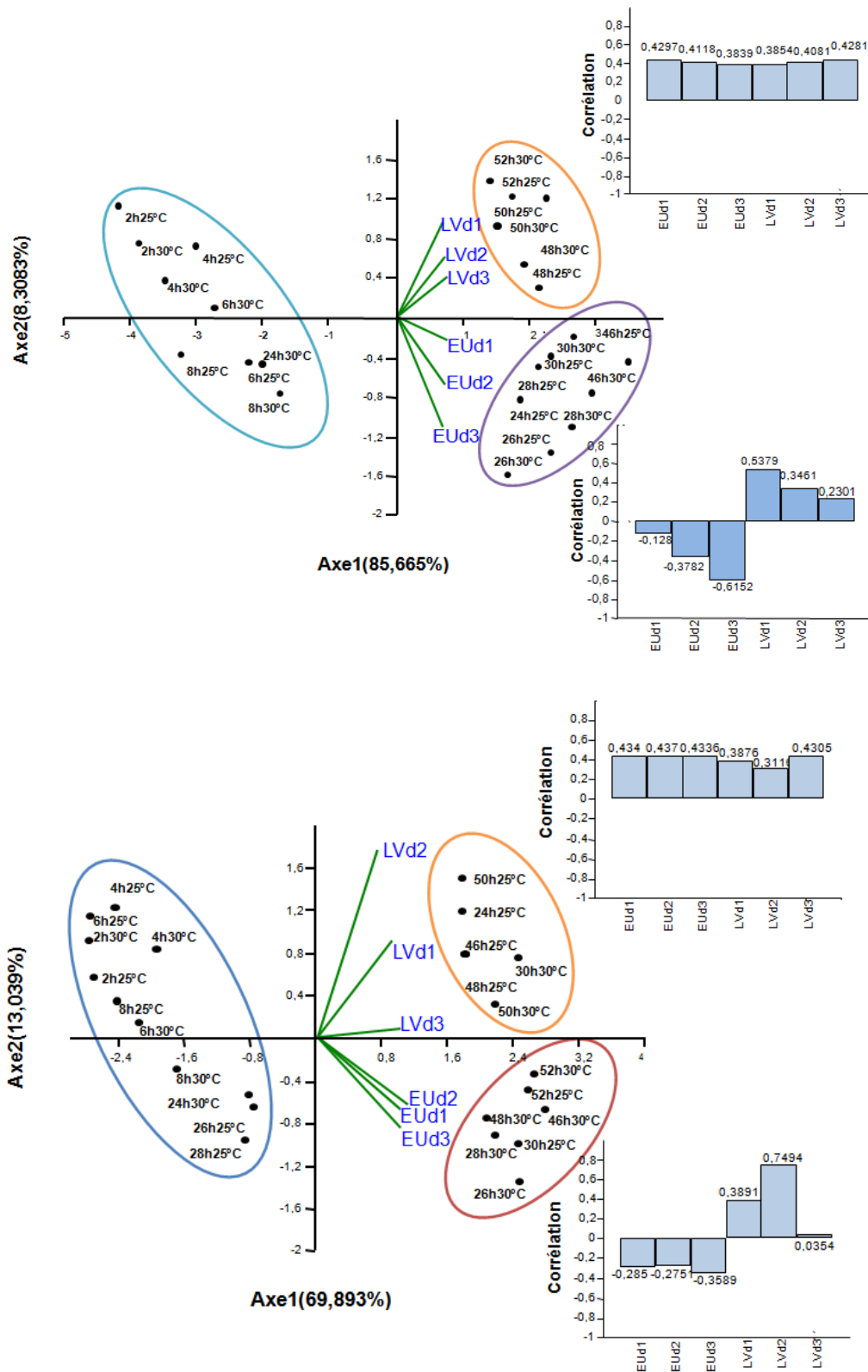


Figure III.12. : Analyse en composantes principales (A.C.P.) de la mortalité corrigée de *Tribolium castaneum* en fonction du temps et de la température

LV : Lavande, EU : Eucalyptus, d : Dose, h : heurs, (30°C,25°C) :températures

L'analyse multivariée appliquée aux valeurs de perturbation corrigée exprime plus de 80 % de la variance sur les deux premiers axes.

La projection des vecteurs relatifs au taux de perturbation à travers les deux axes, montre une certaine disparité d'effet perturbateur. Outre la différence d'effet signalé entre les deux formulations, on avance que l'ensemble des doses de la formulation d'*Eucalyptus* soient les plus précoces sous les différentes températures testées. La perturbation est installée dès 2H à 30°C alors qu'elle s'installe qu'à partir de 8H à 25°C. La même gradation est signalée chez la formulation d'HE de Lavande mais avec un décalage temporelle qui dépasse 16 h à 25°C et à 30°C (Figure III.13).

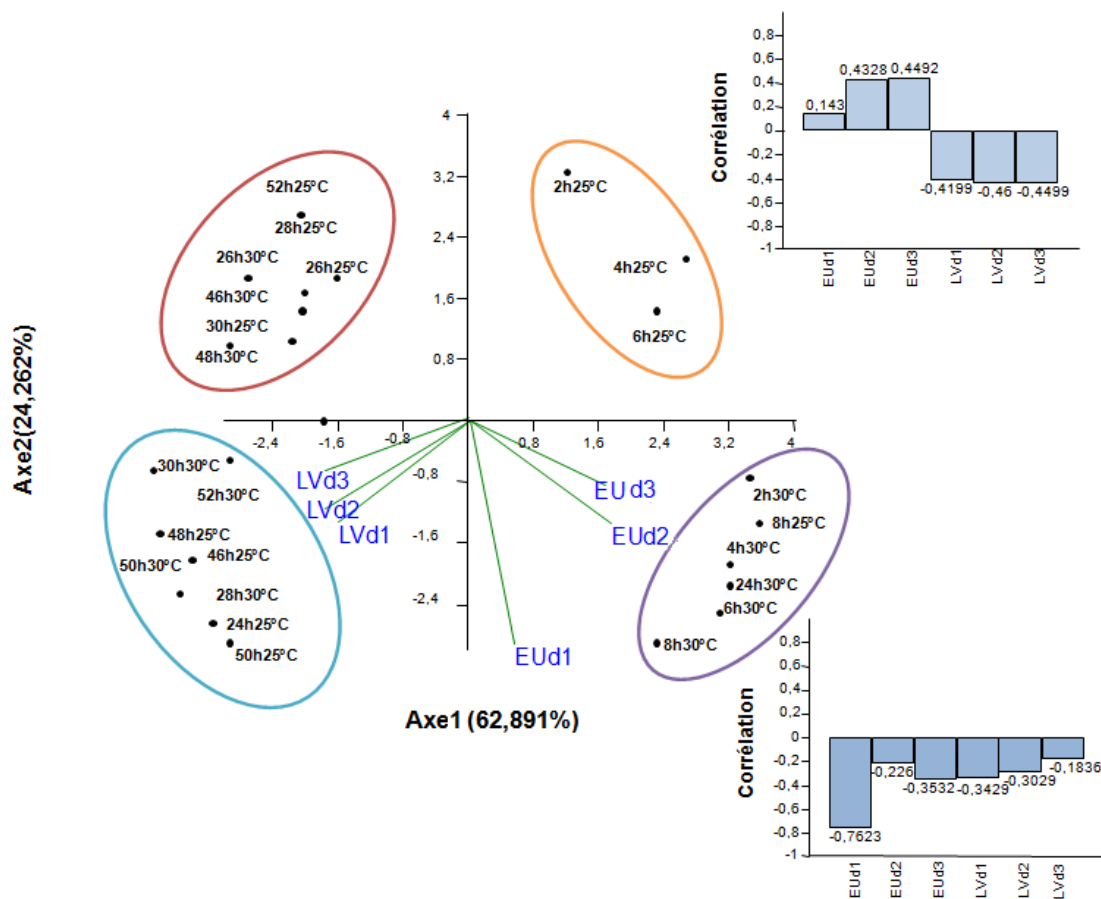


Figure III.13. : Analyse en composantes principales (A.C.P.) de la perturbation corrigée des adultes de *Tribolium castaneum* en fonction du temps et de la température.

LV : Lavande, EU : Eucalyptus, d : Dose, h : heures, (30°C,25°C) :températures

III.4. Etude comparée de l'efficacité des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de *Tribolium castaneum*

III.4.1. Etude comparée de l'effet létal corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de *Tribolium castaneum*

D'après les résultats obtenus par le modèle G.L.M. nous constatons que la mortalité corrigée sous l'effet des huiles essentielles formulées (F-ratio=21.362, $p=0,000$, $p<1\%$), la période (F-ratio=16,147, $p=0,000$, $p<1\%$), et les formes biologiques (F-ratio=181.148, $p=0,000$, $p<1\%$), présentent une différence hautement significative

La figure III.14 Englobe l'effet des huiles essentielles formulées à base d'*Eucalyptus* et de Lavande appliquées sur les individus de *Tribolium castaneum* en fonction du temps (heurs), des stades, des doses et les températures. Concernant l'effet temporel, les résultats montrent une efficacité progressive durant toute la période de l'essai.

On constat une nette différence d'efficacité de l'huile d'Eucalyptus qui se traduit par un fort pourcentage de mortalité corrigé de *T. castaneum* par apport à celui de la Lavande.

Aussi, la dose D3 mentionne une supériorité de toxicité remarquable à l'égard de la D2 et la D1. on observe une plus grande sensibilité des larves aux formulations appliquées par rapport ou adultes (Figure III.14).

Malgré les probabilités qui ne présentent aucune différence significative pour le facteur température, il y a lieu de noter que l'écart de température influence la qualité des traitements appliqués en signalant une meilleure efficacité à 25°C.

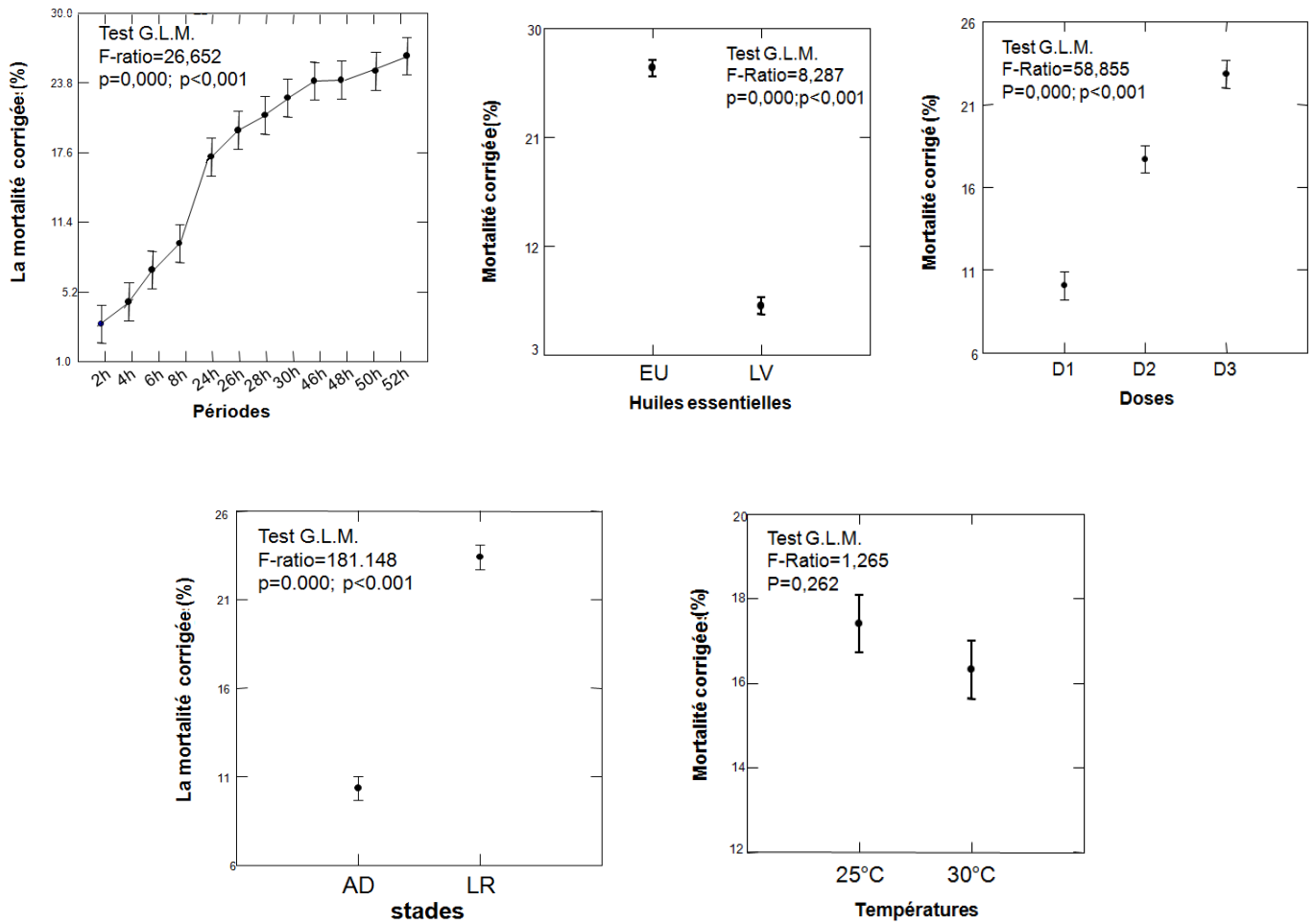


Figure III.14. : Modèle GLM appliqué à la mortalité corrigée sous l'effet des huiles essentielles, des doses, des formes biologiques et de la période

III.4.2. Etude comparée de l'effet perturbateur corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de *Tribolium castaneum*

Dans le but d'évaluer l'efficacité des différentes doses appliquées des deux traitements (HE d'Eucalyptus, HE de Lavande), nous avons effectué une analyse de la variance (G.L.M) de tous les facteurs (la température, huile essentielle, heures, doses). Les résultats de l'analyse de la variance montrent que la période (F-ratio=0,824; p=0,616) exerce un effet non significatif sur la perturbation des individus du *Tribolium castaneum*.

Ce mode d'analyse nous permet de remarquer que l'effet des doses montre une différence très hautement significative entre les différents traitements (F-ratio=17,419 ; $p=0,000$; $p<0,1\%$) avec une meilleure efficacité pour la dose D3 suivie de la dose D2 et enfin de la dose D1 (Figure III.15).

En revanche le facteur température a montré un effet hautement significatif. Les deux huiles essentielles formulées (Eucalyptus ; Lavande) agissent d'une manière significative sur la perturbation corrigée de *T.castaneum* (F-ration=8,257 ; $p=0,004$; $p<0,005$).

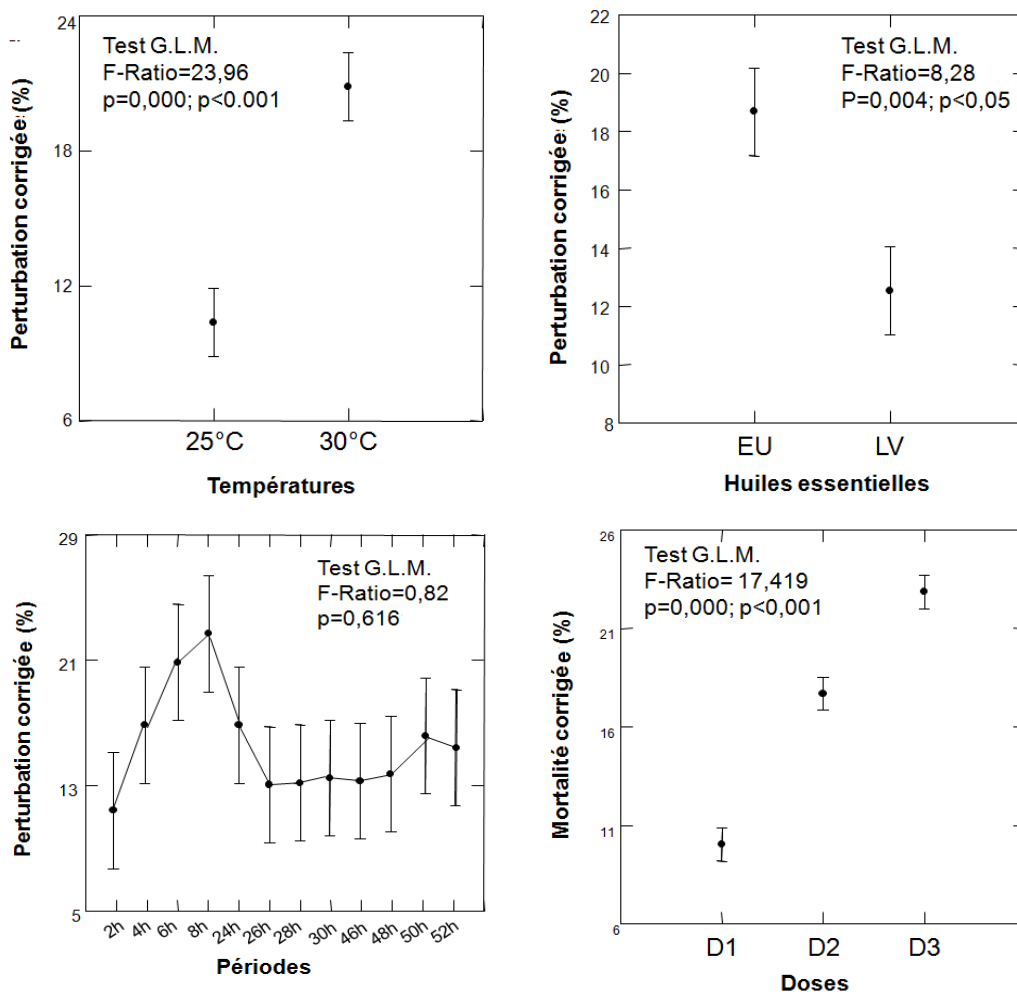


Figure III.15.: Modèle GLM appliqué à la perturbation corrigée sous l'effet des huiles essentielles, des doses, des formes biologiques et de la période.

CHAPITRE IV : DISCUSSION GÉNÉRALE

Un problème important de la conservation des grains dans les greniers traditionnels ou les magasins se pose. Les insectes se développent rapidement à cause du climat favorable et peuvent détruire de 30 à 50% des récoltes après quelques mois d'entreposage (Hall, 1970 ; Alzouma, 1990 ; Foua-B, 1992). Cependant, Plusieurs types de déprédateurs sont à l'origine de ces pertes de céréale en post-récolte et parmi les principaux il y a le *Tribolium castaneum* Herbst (Kéita *et al.*, 2001).

L'une des principales méthodes de lutte contre ce ravageur est l'utilisation d'insecticides ou fumigènes de synthèse (Haubruge *et al.*, 1988 ; Relinger *et al.*, 1988). Ainsi, des pesticides de contact tels que le sofagrain, l'actellic, le pyrémiphos méthyle, sont souvent utilisés pour protéger les stocks. Des produits prohibés comme le DDT et le Lindane sont également utilisés (Léonard, 2004). L'inconvénient de ces insecticides de contact est qu'ils ont souvent une faible activité sur certains stades d'insectes, notamment certaines formes de *Sitophilus oryzae* cachées dans les grains. Leur utilisation excessive provoque aussi l'apparition de souches résistantes dans la population des insectes traités. Il en résulte généralement une accumulation des résidus des pesticides dans le sol, la contamination des aliments ainsi que les risques sanitaires liés à leur manipulation (Léonard, 2004).

Les biopesticides d'origine végétale par contre sont fréquemment biodégradables et moins toxiques que les insecticides de synthèse (Regnault-Roger *et al.*, 2008). Selon Taponjoui *et al.* (2003), le règne végétal offre à cet égard beaucoup de possibilités en offrant des substances d'origine naturelle et plus particulièrement les huiles essentielles qui représentent une solution alternative à la lutte chimique pour la protection des denrées stockées (Vincent *et al.*, 2000).

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation des molécules bioactives par leur utilisation dans la protection des denrées stockées.

Nos objectifs se résument dans l'évaluation de l'efficacité de deux huiles essentielles formulées en poudre (Eucalyptus, Lavande) appliquées à différentes doses (D1, D2 et D3) par le taux de mortalité des deux formes biologiques (larves et adultes) du *Tribolium castaneum* Herbst sous l'effet de différentes températures (25°C, 30°C).

Plusieurs auteurs engagent que Les plantes sont utilisées contre les ravageurs pour leurs effets répulsifs, de contact ou fumigants. Les molécules actives peuvent varier d'une famille à une autre et à l'intérieur d'une même famille. aussi la sensibilité peut différer pour un insecte donné d'un stade à un autre. (Boeke *et al.*, 2004), Ce même auteur a relevé une action répulsive et toxique de *Tephrosia vogelii* (Hook) sur *Callosobruchus maculatus* F, alors que *Blumea aurita* (L.), qui ne présente aucune toxicité, possède un fort pouvoir répulsif. Par ailleurs, *Dracaena arborea* du Mono au Bénin est répulsif et la même espèce récoltée dans le Borgou n'est guère efficace.

Paul *et al.* (2009) fournissent plusieurs exemples de plantes avec une efficacité différente entre les feuilles entières ou réduites en poudre et les graines dans le contrôle de *C. maculatus* et *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). Ces auteurs ont en outre mis en exergue avec *Chenopodium ambrosioides* une variabilité de l'efficacité des traitements en fonction des zones de collecte et des stades phénologiques.

Les monoterpènes sont des insecticides et inhibent la reproduction des insectes (Hardwood *et al.*, 1990 ; Karr *et al.*, 1990 ; Regnault-Roger et Hamraoui., 1990 ; Wright et Chandler., 1996). Les plantes comme les conifères les utilisent pour leur propre défense contre les insectes, c'est le cas de l'oléfine et des résines d'acide diterpénique.

Leur effet peut aussi être anti-appétant, anti-reproducteur ou retardateur de la reproduction et de la longévité des insectes. Elles agissent au niveau des récepteurs de l'acétylcholine estérase des jonctions neuromusculaires. (Huang et Ho, 1998 ; Regnault-Roger, 1999 ; Kouninki, 2001).

La mortalité de *Sitophilus zeamais* observée dans les boîtes contenant la formulation poudreuse à base d'huile essentielle d'*O. gratissimum* serait due aux concentrations de monoterpènes, qui sont présents dans cette huile essentielle et qui sont reconnus pour leur effet insecticide (Jirovertz *et al.*, 2000 ; Regnault-Roger, 2002).

Les huiles essentielles extraites de ces plantes ont été largement utilisées dans la lutte contre les ravageurs de stocks (Hamraoui et Regnault-Roger, 1997 ; Dunkel et Sears, 1998 ; Prates *et al.*, 1998 ; Liu et Ho, 1999 ; Golob *et al.*, 1999 ; Tunç *et al.*, 2000 ; Isman, 2000 *In* Djossou, 2006).

les huiles essentielles agissent souvent comme neurotoxines chez les arthropodes. Toutefois, certaines de ces huiles n'ont pas eu d'effet sur *Sitophilus oryzae* comme celle de *Maeasa lanceolata* Forssk., *Agava americana* L. et *Tagetes minuta* L. (Munyuli, 2003), ainsi que sur *Tribolium castaneum* comme celle d'*Ocimum gratissimum* L., de *Xylopiya aethiopica* Dunal, d'*Annona senegalensis* L., de *Lippia rugosa* et d'*Hyptis spicigera* Lam. (Kouninkie *et al.*, 2007). Les effets d'*Ocimum basilicum* L. et d'*Ocimum gratissimum* L. ont été déjà évalués par fumigation sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé dans le système de post-récolte en Guinée (Kéita *et al.*, 2001).

Ces derniers ont aussi suggéré d'évaluer des insecticides botaniques sur *T. castaneum*, insecte responsable de grandes pertes économiques, et sur d'autres insectes des stocks. Il serait difficile de penser que l'activité insecticide de ces huiles essentielles se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires; elle pourrait aussi être due à certains constituants minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants (Ndomo *et al.*, 2009).

Les résultats acquis dans cette investigation montrent que les huiles essentielles formulées (Eucalyptus et Lavande) appliquées ont un effet de choc remarquable sur les larves des insectes traités par rapport à ceux des adultes qui se traduit par le taux de mortalité de la population de *Triboium castaneum*. A ce propos, Kéita *et al.* (2000) et Regnault-Roger (2002), assurent que mis à part l'inhibition de

l'éclosion des œufs, les vapeurs d'huiles essentielles accroissent la mortalité des larves.

Papachristos *et al.*(2002), ont démontré la toxicité de *Lavandula hybrida*, *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus globulus* sur les œufs d'*Acanthoscelides obtectus* avec une différence de sensibilité significativement corrélée à l'âge. C'est au-delà de trois jours que la sensibilité est la plus forte, probablement à cause d'une plus grande perméabilité du chorion ou de la membrane vitelline facilitant ainsi la diffusion des vapeurs.

Ogendo *et al.* (2008), ont quant à eux démontré la toxicité des huiles essentielles d'*Ocimum gratissimum* L. À 1µl/l sur *Rhyzopertha dominica*, *Oryzaephilus. surinamensis* et *Cryptocarya chinensis* L. avec des taux de mortalité de 98 à 100 % en 24h. Ils ont identifié le méthyle eugénol comme composant majoritaire et précisent une très forte variation dans la composition chimique de neuf chémotypes d'*O. gratissimum* en relation avec la saison, le stade récolte ainsi que l'origine géographique.

Les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou. Isman (1999), émet cette hypothèse car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes non mûrs, sensibles ou à corps mou. Cette théorie est détaillée par Wigglesworth en 1972, il avance que les huiles essentielles dégradent l'enveloppe externe de certains insectes et acariens. Le rôle de cette enveloppe qui est la cuticule est de prévenir les pertes hydriques. Elle est sécrétée par l'épiderme et comporte plusieurs couches dont la couche externe, composée de cires donnant les propriétés hydrofuges à la cuticule. Les molécules de cette couche cireuse présentent une rangée de groupes aliphatiques vers l'extérieur créant ainsi une couche hydrofuge et imperméable, La nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduits de cette couche cireuse et sont affectés par l'huile essentielle ce qui peut entraîner l'asphyxie. Le produit appliqué sur le corps des larves traverse la cuticule à travers des canalicules cireux et la distribution s'effectue directement dans l'organisme, plus particulièrement dans les zones les plus lipophiles. L'hémolymphe véhicule la molécule dans tout le corps de l'insecte (Padilla, 2005).

Concernant l'effet dose, nos résultats obtenus ont montré que la dose la plus concentrée (D3) affichait une meilleure efficacité par rapport aux autres doses testées ; ce qui corrobore avec les résultats de Aiboud (2011) qui a testé les huiles essentielles du myrte, le thym, l'origan, l'eucalyptus, le bois d'inde et les clous de girofle sur l'émergence des adultes de niébé *Callosobruchus maculatus*.

Les tests effectués montrent que les différentes huiles exercent une activité larvicide très hautement significative proportionnellement à l'augmentation de la dose.

Les résultats montrent que les traitements par les deux HE essentielles formulées (Eucalyptus, Lavande) exercent un effet perturbateur sur les individus de *T. castaneum*. Pour cet effet, les auteurs citent que les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovicide, et adulticide à l'égard de différents ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés poly-phénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (Regnault-Roger et al., 2002).

En général, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effets aigus interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des Arthropodes (Fanny, 2008). L'octopamine est un neuromodulateur spécifique des invertébrés. Cette molécule a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. Enan et Isman (2000), font le lien entre l'application de l'eugénol, de l'alpha-terpinéol et de l'alcool cinnamique, et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine.

Enan (2005), a également démontré un effet sur la Tyramine, autre neurotransmetteur des insectes. Les huiles essentielles ont des effets anti-appétant, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité ainsi que le développement des insectes et acariens. Des travaux récents montrent que ces mono terpènes inhibent la cholinestérase (Kaene et Ryan, 1999).

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre

environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne (Bruneton, 1999). Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons sont nombreuses (Assad *et al.*, 1997; Lopes *et al.*, 1997). L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants. À titre d'exemple, il a été démontré que, la composition de l'huile essentielle de feuilles à *Ocimum gratissimum*, varie considérablement en fonction de l'heure de la récolte (Vasconcelos *et al.*, 1999).

Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle. Les *Citrus* par exemple ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (Alvarez-Castellanos *et al.* 2003).

Conclusion et perspectives

Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'effet insecticide de deux huiles essentielles formulées sous forme de poudre à base d'Eucalyptus et de Lavande sur deux formes biologiques (larves et adultes) du *Tribolium castaneum* *Herbst* à différentes températures, il nous a paru intéressant de dégager les principaux résultats auxquels nous avons aboutis.

Les résultats relatifs aux traitements biologiques par Les deux huiles essentielles formulées testées ont montré une toxicité temporelle et les applications réalisées ont enregistré une efficacité précoce et progressive tout au long du suivi et cela dès les premières heures.après traitement

Cependant l'huile essentielle issue de la plante d'Eucalyptus a montré une très forte toxicité et donc une meilleure efficacité par rapport à celle de la Lavande sur la mortalité de *T.castaneum*.

Quant aux formes biologiques étudiées, les résultats ont enregistré une nette sensibilité des larves par rapport aux adultes aux deux bio formulations testées.

Concernant l'effet dose, les résultats obtenus ont montré que pour les deux huiles essentielles testées, la dose la plus concentrée (D3) affichait la meilleure efficacité, par rapport aux deux autres doses testées (D2) et (D1).

Grace à ces résultats qui semblent intéressants, on peut conclure que les deux huiles essentielles formulées (Eucalyptus, Lavande) possèdent un effet insecticide certain se traduisant par des effets mortels et perturbateurs sur les individus de *Tribolium castaneum*,

En revanche, malgré que les probabilités ne présentent aucune différence significative pour le facteur température, il est à noter que l'écart de température influence la qualité des traitements appliqués en signalant en majorité une meilleure efficacité à 30°C. Cependant, cette non significativité pourrait probablement être expliquée par la stabilité des formulations appliquées.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

DEDICACES

Sommaire.

LISTE D'ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

RESUME

OBSTRACT

الملخص

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1. Introduction	3
I.2. Importance du blé dans le monde et en Algérie.....	3
I.3. Conservation et stockage des denrées.....	4
I.3.1. Principes et moyens de conservation.....	4
I.3.1.1. Conservation des grains à l'état sec.....	4
I.3.1.2. Conservation des grains humides.....	5
I.3.2. Principe et modes de stockage.....	5
I.3.2.1. Techniques de stockage.....	6
I.4. Altération des grains des céréales stockées.....	7
I.4.1. Facteurs abiotiques.	9
I.4.1.1. Le temps.....	9
I.4.1.2. La température.....	9
I.4.1.3. Humidité.....	11
I.4.1.4. Oxygène.....	11
I.4.2. Facteurs biotiques.....	13
I.4.2.1. Les vertébrés.....	13
I.4.2.2. Les bactéries.....	14
I.4.2.3. Les moisissures.....	14
I.5. Les insectes ravageurs des denrées.....	14

I.5.1. Les coléoptères des denrées.....	14
I.5.1.1. Présentation de <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst, 1797).....	15
I.5.1.1.1. Caractères généraux des <i>Ténébrionidae</i>	15
I.5.1.1.2. Etude du genre <i>Tribolium</i>	15
I.5.1.1.3. Position systématique de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst.....	16
I.5.1.1.4. Origine et répartition.....	16
I.5.1.1.5. Description des différents états de <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	17
I.5.1.1.6. Distinction des sexes du <i>Tribolium castaneum</i> Herbst.....	18
I.5.1.1.7. Biologie de <i>Tribolium castaneum</i>	18
I.5.1.1.8. Régime alimentaire et dégâts.....	19
I.5.1.1.9. Les ennemis naturels.....	20
I.6. Les moyens de lutte utilisée en stocks.....	20
I.6.1. La lutte chimique.....	20
I.6.2. La lutte physique.....	21
I.6.3. La lutte biologique.....	21
I.6.3.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	22
I.6.3.1.1. Répartition, localisation des huiles essentielles.....	22
I.6.3.1.2. Fonctions biologiques et rôle des huiles essentielles.....	22
I.6.3.1.3. Variabilité des huiles essentielles.....	23
I.6.3.2. Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides.....	23
I.6.3.2.1. Activité insecticide des huiles essentielles.....	24
I.6.3.2.2. Toxicité des huiles essentielles (notion de la DL50).....	25
CHAPITRE II Matériel et méthodes	26
II.1. Objectif.....	26
II.2. Matériel d'étude.....	26
II.2.1. Préparation du Matériel animal.....	26
II.2.2. Préparation de matériel végétal.....	27

II.2.3. La formulation.....	28
II.3. Méthodes d'étude.....	29
II.3.1. Dispositif expérimental des bio-essais	29
II.3.2. Estimation du taux de mortalité et de perturbation.....	30
II.3.3. Estimation de la mortalité corrigée.....	31
II.4. Analyse statistique des résultats	31
II.4.1. Analyses multivariées (PAST vers. 1.6, HAMMER <i>et al.</i> , 2001).....	31
II.4.2. Analyses de la variance (SYSTAT vers. 7, SPSS 2009).....	31
CHAPITRE III : RÉSULTATS	33
III.1.Évaluation de l'effet létal et perturbateur des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	33
III.1.1.Évaluation temporelle du taux de mortalité des différentes formes biologiques du <i>Tribolium castaneum</i> sous l'effet de l'huile essentielle formulée à base de Lavande.....	33
III.1.2.Évaluation temporelle du taux de perturbation des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> sous l'effet d'huile essentielle formulée à base de Lavande.....	34
III.1.3.Évaluation temporelle du taux de mortalité des formes biologiques de <i>Tribolium confusum</i> sous l'effet d'huile essentielle à base d'Eucalyptus.....	35
III.1.4.Évaluation temporelle du taux de perturbation des adultes de <i>Tribolium castaneum</i> sous l'effet de l'huile essentielle formulée à base d'Eucalyptus.....	36
III.2.Évaluation de l'effet létal et perturbateur corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	37
III.2.1. Évaluation temporelle de mortalité corrigée et de perturbation corrigée des formes biologiques de <i>Tribolium castaneum</i>	37
III.2.1.1.Sous l'effet de l'huile essentielle à base de Lavande.....	37
III.2.1.2.Sous l'effet de l'huile essentielle formulée à base d'Eucalyptus	39
III.3. Tendance de l'efficacité des différentes formulations d'huiles essentielles sur les formes biologiques de <i>Tribolium castaneum</i>	41
III.4. Etude comparée de l'efficacité des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	44

III.4.1. Etude comparée de l'effet létal corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	44
III.4.2. Etude comparée de l'effet perturbateur corrigé des différentes formulations d'huiles essentielles sur les populations de <i>Tribolium castaneum</i>	45
CHAPITRE IV : DISCUSSION GENERALE	47
Conclusion et Perspectives	54
ANNEXE	
Référence bibliographique	

ANNEXE

