### REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



### **UNIVERSITE SAAD DAHLEB- Blida 01**

## FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DEPARTEMENT DE BIOLOGIE DES POPULATION ET DES ORGANISMES

# TEST BIOCIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DU THYM Thymus vulgaris CONTRE UN RAVAGEUR DES DENREES STOCKEES LE Charançon De Blé Sitophilus granarius

### Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie

Spécialité: Parasitologie

Présenté par : ABDELLI Chaima

### Soutenu devant le jury composé de:

Mme Zerkaoui A.	MAA	USDB	Présidente.
Mme Tail G.	Prof.	USDB	Promotrice.
Mme Bachir K.	MAB	UMMTO	Co-Promotrice
Mme saighi H.	MAA	USDB	Examinatrice.

**Promotion 2019-2020** 

### REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Ce travail est résultat d'un effort constant cet effort n'aurait pu aboutir sans la contribution de nombre de personnes ainsi se présente l'occasion de les remercier :

J' exprime mes remerciements à notre Promotrice de mémoire, l'enseignante Mme TAIL Ghania et notre Co-Promotrice Mme BACHIR Kamilia pour avoir

dirigé ce travail, pour leurs conseils et encouragements qui nous ont aidé à finir ce travail.

Je tenir à adresser mes remerciements à Mme

Zerkaoui A. qui a bien voulu présider mon jury et pour sa

précieuse aide, ses encouragements et ses conseils et pour l'aide

compétente qu'il nous a apporté pour finir ce travail.

Nos remerciements vont également à Madame Saighi H.

pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse un grand merci à l'ingénieur de

laboratoire de parasitologie Madame Naziha

Sans oublier de remercier toutes les personnes qui,

de près ou de loin nous ont aidés à la réalisation de ce travail.

### Chaima

### **Dédicaces**

A mes chers parents.

Ma mère pour m'avoir mis au monde et pour m'avoir accompagné tout le long de ma vie.

Mon père qui sans lui je ne serais pas arrivée jusqu'ici.

J'espère toujours rester fidèle aux valeurs morales que vous m'avez apprises.

### Mon mari ADEM

Ma très chère sœur ASMAA et mes frères Et à toute ma famille.

A toutes les personnes que je porte dans le cœur.

Je vous dédie ce travail car je ne peux que vous offrir ce que j'ai appris de mieux dans ma vie

**CHICHITA** 

### Liste des abréviations

**AFNOR** Association Française de la Normalisation.

**D** Dose.

**FAO** Food and Agricultural Organization.

**HE** Huile Essentielle.

R Répétition.

**DDT** Dichlorodiphényltrichloroéthane.

**Ccls** Coopérative des céréales et legumes secs.

**DL** Dose létale.

**ACP** Analyse des composantes pricipales.

**HPLC** High-Performance liquid chromatography.

### Liste des figures

Figure 01: Aspect morphologique de <i>Thymus vulgaris</i>
<b>Figure 02</b> : Distribution géographique du thym dans le monde
<b>Figure 03</b> : : Observations microscopiques : (1) Poils sécréteurs et(2) protecteurs unisériés pluricellulaires (Gx 400); Poils protecteurs longs et poils sécréteurs en ponctuations brillantes (loupe Gx4,5)
<b>Figure 04 :</b> Cycle évolutif de l'insecte ravageur le charançon de blé
Figure 05: Adulte de <i>Sitophilus granarius</i> vue dorsale sous loupe binoculaire x10 (original)
<b>Figure 06</b> : La plante de <i>Thymus vulgaris</i> sèche
Figure 07: Montage d'hydrodistilation (Clevenger)
<b>Figure 08</b> : Protocole expérimentale de l'extraction de l'huile essentielle du thym26
<b>Figure 09</b> : Dispositif expérimental des essais par contact de l'HE de thym (original)28
Figure 10 : Taux des moyennes de mortalité observé
Figure 11 : Taux de mortalitées corrigées selon la formule d'Abbott
<b>Figure 12</b> : Corrélation entre les doses utilisées et la durée de traitement cotre <i>Sitophilus granarius</i> (ACP)

### Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales localisations géographiques du thym en Algérie           08
Tableau 02: Doses utilisées dans le test de contact pour l'huile essentielle de Thymus         vulgaris.       27
Tableau 03 : Les rendements en huile essentielle du Thym31
<b>Tableau 04</b> : La moyenne de la mortalité observée en pourcentages
Tableau 05 : Le pourcentage de mortalité corrigée comparativement au temoin selon la formule d'Abbott
<b>Tableau 06</b> : Les doses létales qui tuent 50%.70% et 90% de la population traitée34

### Résumé

Cette recherche a été menée dans l'optique de déterminer le potentiel insecticide de l'huile essentielle du thym *Thymus vulgaris* extraite par hydrodistilation sur le charançon de blé *Sitophilus granarius* ravageur redoutable des denrées stockées.En se référant à la mortalité des adultes comme facteur biologique. Les résultats des tests de contacte sont très significatifs car nous avons pu enregistrer une mortalité totale (100%). Ces résultats dévoilent que l'huile essentielle du thym a un potentiel insecticide élevé contre *Sitophilus granarius*.

**Mots clés :** activité insecticide, *Sitophilus granarius*, *Thymus vulgaris*, contact, huile essentielle.

### **Abstract**

This research aims to determinate the insecticidal potential of *Thymus vulgaris* essential oil's extracted by hydrodistilation on *Sitophilus granarius*, a pest of stocked foods. On mortality as the only biological factor. For the mortality the results of the contact tests are very significant where we recorded the death of 100%. These results reveal that the essential oil of thyme has an insecticidal activity on *Sitophilus granarius*.

Key words: insecticidal activity, Sitophilus granarius, Thymus vulgaris, contact, essential oil.

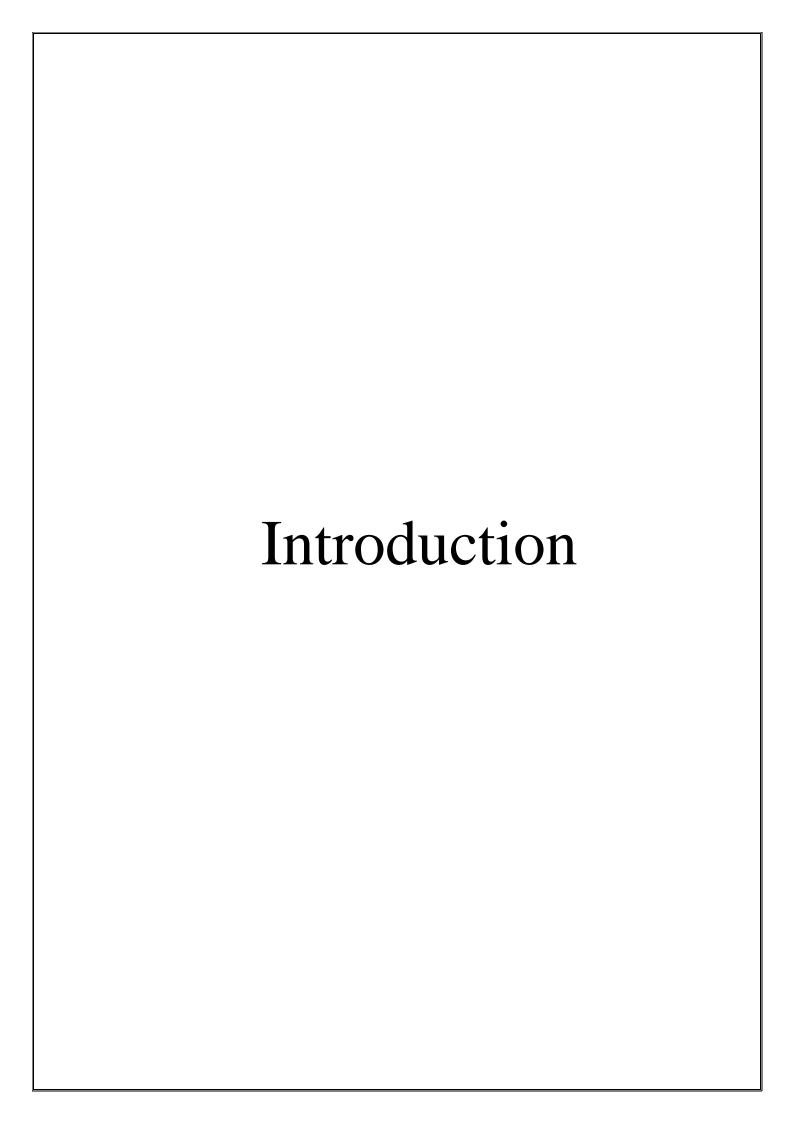
مل	خص
یر:	كز هذا العمل على در اسة فعالية الزيت العطري للز عتر Thymus vulgarisو خاصيته المبيدة على الحشرة الضارة
الما	تواجدة في المواد الغذائية المخزنة و هي Sitophilus granarius
تبر	ِرَ النتائج تأثيرًا سميًا واضحًا لزيت الزعتر على هذه الأفة لاختبار الاتصال بالإضافة إلى تأثير طارد ملحوظ جدا
الكا	للمات المفتاحية: زيت اساسية ؛ الاتصال ؛Sitophilus granarius ; Thymus vulgaris,وخاصيته المبيدة

### Table des matières

Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction générale
Chapitre 1 : synthèse bibliographique
I.1 La plante du Thym Thymus vulgaris04
1.1 Généralités et description de la plante04
<b>1.2</b> Classification taxonomique
<b>1.3</b> Habitat
<b>1.4</b> Utilisation
<b>1.5</b> Principes actifs du thym
<b>1.6</b> Origine et distribution
I.2 Les huiles essentielles
<b>2.1</b> Définition
<b>2.2</b> Localisation et Répartition botanique
<b>2.2.1</b> Répartition botanique
<b>2.2.2</b> Localisation
2.3 Huile essentielle du thym
2.4 Composition chimique
2.5 Activité Insecticide des huiles essentielles
<b>2.6</b> Toxicité des huiles essentielles

I. 3 Le charançon de blé Sitophilus granarius
3.1 La phylogénétique
3.2 Généralité et Description de l'insecte ravageur de blé
3.3 Le cycle de développement
<b>3.4</b> Les dégâts
<b>3.5</b> La lutte
<b>3. 5.1</b> La lutte préventive
Protection des locaux de stockage
• Protection de la denrée
<b>3. 5.2</b> La lutte traditionnelle
• L'exposition au soleil
• L'enfumage
• Utilisation des matières inertes
• Conservation en atmosphere confine
<b>3.5.3</b> La lutte biotechnique (Par confusion sexuelle)
<b>3.5.4</b> La lutte biologique
<b>3.5.5</b> La lutte physique et mécanique
<b>3.5.6</b> la lute chimique
> Inconvenient
Chapitre II: Matériels et Méthodes
II. 2 Matériel et Méthode22
<b>2.1</b> Matériels
<b>2.1.1</b> Matériel Animal

<b>2.1.2</b> Matériel Végétal			
<b>2.2</b> Méthodes			
<b>2.2.1</b> Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation			
<b>2.2.2</b> Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle du thym25			
2.2.3 Évaluation de la mortalité des adultes de Sitophilus granarius par effet contact.25			
<b>2.2.4</b> Éxploitation des résultats			
• Évaluation du rendement en huile essentielle27			
• Correction de mortalité			
• Calcul des doses létales			
• Analyse statistique28			
Chapitre III: Résultats et Discussion			
III. 1 Résultats			
<b>1.1</b> Rendement en huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>			
1.2 Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle du thym29			
<b>1.2.1</b> Évaluation de la mortalité des adultes de <i>Sitophilus granarius</i> 30			
1.2.2 La moyenne de la mortalité observée			
1.2.3 La mortalité corrigée			
1.2.4 Calcule des doses létales			
<b>1.2.5</b> L'analyse statistique (Corrélation)			
III. 2 Discussion			
Conclusion			



### Introduction générale

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (**Djermoun**, 2009).

Les denrées stockées peuvent être attaquées par les insectes, les champignons et les rongeurs. Les dégâts causés par les insectes sont les plus importants. Même si le problème se pose de manière globale, il est plus important dans les pays en voie de développement et dans ceux de l'Afrique en particulier à cause des conditions climatiques favorables à leur développement (Kouassi,2001). Les céréales de production locale en Algérie peuvent être plus ou moins sensibles aux attaques d'insectes de stockage qui provoquent selon les années, des pertes pouvant atteindre des niveaux supérieurs à 20% en Afrique (FAO,2012). Actuellement, le manque de moyens de conservation fiableset peu onéreux conduit les chercheurs à mettre en œuvre des programmes de sécurité alimentaire par une protection intégrée efficace des cultures et des denrées stockées. La lutte biologique n'est pas une méthode fréquemment utilisée dans la protection des céréales stockées (Kouassi, 2001).

L'utilisation d'insecticides ou fumigènes de synthèse est l'une des méthodes de lutte efficace contre ces ravageurs (Haubruge & al., 1998; Relinger & al., 1988). Par conséquant, cette méthode dégage des inconvénients qui limitent son emploi. Ils'agit notamment de la présence de résidus dans les denrées (danger biologique), du développement de souches d'insectes résistantes à ces insecticides, de la pollution de l'environnement, conduisants à de nombreux cas d'intoxication et d'empoisonnement signalés dans certains pays (Kumar, 1991).

En conséquant, tous les leviers possibles pouvant contribuer à protéger les stocks de céréales contre les attaques d'insectes nécessitent d'etre activés dans une approche moderne de la protection intégrée appliquée à la préservation des stocks de céréales après récolte(Vincent et al.,2009).

Le présent travail a pour but d'évaluer l'effet insecticide de l'huile essentielle *Thymus vulgaris* sur l'insecte ravageur des céréales stockées Charançon de blé *Sitophilus granarius*.

Le manuscrit est divisé en trois parties :

- Une revue bibliographique contenant des informations sur la plante de thym et l'insecte utilisé dans nos tests.
- Une partie expérimentale qui présente le teste biocide de la plante sur l'adulte de charançon de blé.
- Les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Chapitre I:

Synthèse bibliographique

### I.1 La plante du thym Thymus vulgaris

### I.1.1 Généralités et description de la plante du thym Thymus vulgaris

Le genre *Thymus* est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées avec comme forte diversité dans la partie occidentale du bassin méditerranéen (**Morales,2002**).

Etymiologiquement, Le nom « *Thymus* » dérive du mot grec « thymos » qui signifie «parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (**Pariente,2001**). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (**Iserin,2001**).

### Nom vernaculaire

Les noms vernaculaires de l'espèce *Thymus vulgaris* sont les suivants :

- Arabe : saatar, zaatar (en arabe صعتر ou زعتر ou زعتر) (**Quazel** et al.,1963)
- Français : thym vulgaire, thym de jardins, farigoule, farigoule et barigoule.
- Allemande: Thymian, Echter Thymian, Garten thymian, RÖmischer thymian,romischer quendel, welscher thymian kutteelkraut.
- Anglais : common thym, garden thym, (**Teuscher** et al., 2005)

### Description morphologique

Thymus vulgaris est un sous-arbrisseau touffu, vivace et aromatique pouvant atteindre de 20 à 30 cm de hauteur (**fig.02**). Ses tiges sont dressées, ligneuses, rameuses et tortueuses à la base et ses racines sont assez robustes, ses branches sont minces, denses, ramifiées, blanchâtres et courtement velues, portant des feuilles persistantes de couleur vert grisâtre, subsessiles, opposées, oblongues-lancéolées à linéaires et mesurant de 3 à 12 mm de long et de 0.5 à 3 mm de large. Les marges de leurs limbes sont enroulées sur la face ventrale ce qui donne aux feuilles une forme générale d'aiguille (**Prasanth** *et al.*,**2014**).

Ses petites fleurs, zygomorphes sont regroupées en en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose(Soto-Mendivil et al.,2006).

Le calice est velu, hérissé de poils durs, vert, souvent avec des taches violettes, en forme de tube ventru à la base, mesurant de 3 à 4 mm de long (**fig.02**). Il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée La corolle est bilabiée, blanchâtre à violet pâle et de taille variable. Le fruit est un tétramère brun clair à brun foncé qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm). La période de floraison de l'espèce a lieu, mai à août (**Prasanth** *et al.*, **2014**)

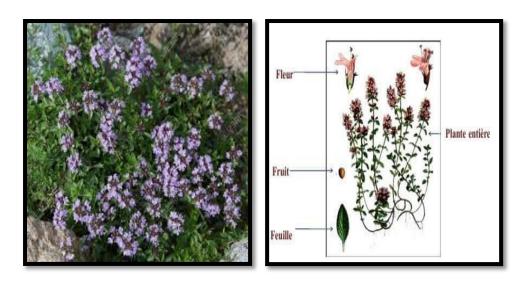


Figure.01: Aspect morphologique de *Thymus vulgaris* ( Iserin,2001).

### I.1.2 Classification Taxonomique

La situation botanique de l'espèce *Thymus vulgaris* L. est donnée comme suite:

(Goetz et Ghédira, 2012)

Règne: Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

**Embranchement**: Magnoliophyta

Sous-embranchement: Magnoliophytina

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: Thymus

**Espèce**: Thymus vulgaris L

### I.1.3. Habitat

En termes d'exigence édaphiques, le thym pousse bien dans des endroits naturels, sur sol légers et calcaires mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux non détrempés (Poletti,1988).

Quant au bioclimat ideal à son développement, *Thymus vulgaris* est peu éxigeant à l'humidité car il nécessite des endroits à conditions extrèmes caractèrisés de sécheresse .C'est d'ailleurs sur sols pauvres que se développe le mieux son arome .Dans des endroits de fortes gelée , une protection est recommandée durant l'hiver sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en aout ,en rangées encarrées environ 20 à 30 cm ; de préférence sur sol léger et sablonneux (**Eberhardet al., 2005**)

### I.1.4.Utilisation

Thymus vulgaris est l'une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde, ses applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et al., 2009).

Le thym est consommé en tisane, condiment ou épice (Stahl-Biskup et Sàez, 2002).

En raison de ses nombreuses propriétés ethno médicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussive, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, anthelminthique, diaphorétique et diurétique (Johnson,1998). En usage interne, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires (Polese,2006). En usage externe, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs (Namsa et al., 2009). Elles peuvent s'employer en gargarismes,

inhalations, bains de bouche et comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine soulageant de ce fait, la dépression nerveuse (Özcan et Chalchat, 2004)

### I.1.5 Principes actifs du thym

Au vu de ses multiples utilisations, *Thymus vulgaris* contient comme toute plante médicinale, des molécules bioactives faisants parties de ses métabolites secondaires :

- ➤ Les acides phénoliques : acide caféique (Cowan, 1999), acide rosmarinique (Takeuchi et al., 2004); Le thymol (Anti-infectieux majeur) (Haddaf et al., 2004).
- Les flavonoïdes : hesperédine, eriotrécine, narirutine (Takeuchi et al., 2004),
   Lutéoline (Bazylko et Strzelecka, 2007).
  - Les polyphénols : tanin (Cowan, 1999 ; özcan et Chalchat, 2004).

### I.1.6 Origine et distribution

Thymus vulgaris est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française (Ozcan et al., 2004; Amiot,2005). Il est maintenant cultivé partout dans le monde comme thé, épice et plante médicinale (Kitajima et al., 2004). Thymus vulgaris se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (Kaloustian et al., 2003). Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Polletti,1988).

Le basin Méditéranéen est considéré comme étant le berceau de genre thymus (**fig.03**), où en trouve plus de 110 espèces différentes de ce genre (**Nickavar** *et al.*,2005).

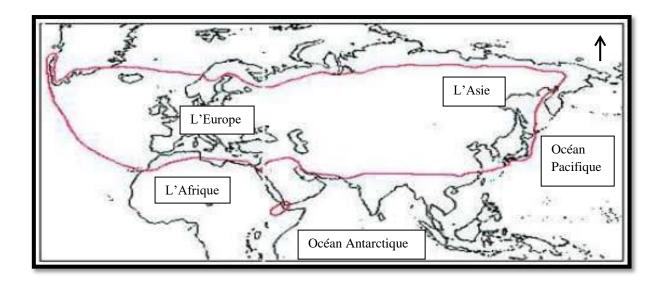


Figure.02 : Distribution géographique du thym dans le monde (Stahl-biskup,2002)

En Algérie le genre *Thymus* inclut environ 300 éspèces à travers le monde dont 11 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endimiques (**Kabouche et** *al* .,2005). Ces espèces sont réparties du nord algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais (**Tableau01**).

Tableau 01 : Principales localisations géographiques du thym en Algérie(Quezel et Santa, 1963)

Commun dans le tell Encadmique Algérien
communication and an amount of a second
Très rare dans le sous secteur de l'atlas
tellien.
Très rare dans le sous secteur du tell
constantinois et de la petite kabylie.
Assez rare dans : le sous secteur de l'atlas
tellien, le secteur du tell constantinois et
petite et grande kabylie.
Rare dans: le sous secteur des hauts
plateaux Algérois ,Oranais et contantinois.
Rare dans : le sous secteur de l'atlas tellien
(Terni) et de l'atlas tellien
(Médéa,Benchicao).Le sous secteur des
hauts plateaux Algérois,Oranais(Tiaret) et
Constantinois(Aumale).
Très rare dans le sous-secteur de l'atlas
Saharien.
Très rare dans le sous-secteur des hauts
plateaux Algeroix et Oranais.
Commun sauf sur littoral.
Très commun dans toutes les régions
montagneuses et rare ailleurs.
Endimique dans le nord secteur algérois.

### I.2 Les huiles essentielles

### I.2.1. Définition

Les huiles essentielles (HE) sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cske et Kaufman, 1999). Ce sont des substances organiques aromatiques liquides volatiles et odorantes, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur (Evans, 1999).

Contrairement à ce qu'on pensaient, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras (Anton et Lobstein, 2005). Selon la norme AFNOR NF T 75-006, « l'huile essentielle indique le produit obtenu à partir d'une substance principale d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe soit par hydro distillation « sèche ». Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse des HE par des procédés physiques » (Afnor, 2000).

### I.2.2 Localisation et Répartition botanique des huiles essentielles

### • Répartition botanique

Les huiles essentielles ne sont pas présentent chez tous les végétaux.

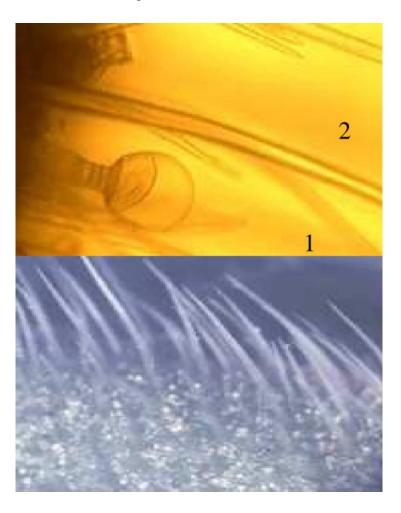
Uniquement 10% des plante sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont dites aromatiques (**Bruneton,1999**).Les huiles essentielles sont rencontrées dans diveres familles botaniques elles se localisent dans les parties vivantes de la plante et forment dans le cytoplasme descellules spécialisées (**Degryse et** *al.***,2008**).

Le végétal aromatique fabrique de faibles quantités des huiles essentielles dans ses cellules excrétrices, qu'il concentre dans des poches ou des poils comme pour les lamiacées situées dans les poils sécritrices dans certaines parties de la plante (soit endogènes ou exogènes) : fleur, fruit, feuille, tige, rhizome, écorce...etc (Anonyme, 2002).

Certaines familles de végétaux sont particulièrement riches telles que : Conifères, Myrtacées, ombellifères composées (**Boulos,1983**). Elles peuvent être présentes dans différentes organes de la même plante. La compilation des huiles essentielles peut alors varier d'un organe à l'autre (**Paris et Hurabielle,1981**).

### Localisation

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule (fig.04). Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des poils sécréteurs (Lamiaceae). Comme elles et aussi transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essence sont localisées dans les tissus internes (Bruneton,1993). Au niveau de l'emplacement du stockage, les gouttelettes d'huiles essentielles sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acide gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. Ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air grâce à leur caractère lipophile et leur imperméabilité extrêmement aux gaz (Anton et al, 2005).



**Figure.03 :** Observations microscopiques : (1) Poils sécréteurs et(2) protecteurs unisériés pluricellulaires (Gx 400); Poils protecteurs longs et poils sécréteurs en ponctuations brillantes (loupe Gx4,5)(**Boukhatem** *et al.*,**2010**).

### I.2.3 Huile essentielle du thym

L'HE du thym est extraite principalement à partir des feuilles et des sommités fleuries (Haraguchi et al.,1996).

L'HE du thym est une huile suceptible de présenter de grandes variations ,qui sont principalement d'origine génétique et édaphoclimatiques, elle dépend également de la saison de cueillette (stade végétatif) (Viaud,1993).

### I.2.4 Composition chimique des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélange complexe et variable de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes sont :

- Les terpénoides
- les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Gildo,2006).

### I.2.5 Activité insecticide des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles contre les déprédateurs des denrées entreposées par contacts, ingestion et par fumigation a bien été démontré, 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, 2000). L'effet insecticide de ces huiles est assures par leur volatilité et leur petite taille, beaucoup de constituants des huiles essentielles volatiles interagissent avec les récepteurs d'odeur des insectes, déclenchent des comportements variés : répulsion, attraction, oviposition (Tripathi et al., 2011).

Les propriétés insecticides de l'huile de *Juniperus phoenicea* sont testées contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum*; cette huile a manifesté un effet anti appétant intéressant. Une étude préliminaire a montré que cette huile présente une toxicité élevée vis à vis de cet insecte (**Bouzouita&** *al.*,2008).

**Tapondjou** *et al* (2009), ont démontré l'efficacité insecticide par effet répulsif de l'huile essentielle de *Callistemon viminalis* contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera).

Les huiles essentielles ont des différents effets sur les insectes :

• Effets anti-appètent, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement

des insectes et acariens. Des travaux récents montrent que les mono terpènes inhibent le

cholinestérase (Keane & Ryan, 1999).

• Effets sur l'octopamine : L'octopamine est un neuromodulateur spécifique des invertébrés.

Cette molécule, a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, le vol et le

métabolisme des invertébrés (Enan, 2000 in Bastien., 2008).

• Effets physiques où les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule

des arthropodes à corps mous (Isman, 2000).

I.2.6 Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est moins investiguées. Néanmoins, quelques informations

sur certaines toxicités sont décrites par la littérature. En règle générale, les huiles essentielles

d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des doses DL50

supérieurs à 5g/Kg. En ce qui concerne la lavande, la toxicité est faible autour des 5g/Kg

(donnée observée chez l'animal) (Bruneton,1993). Chez l'homme on peut observer des

intoxications aigues. Ces dernières sont souvent observéeschez les petits enfants qui sont

provoqués par l'ingestion de quantité importante d'huiles essentielles (Pibiri,2006).

Selon Franchomme et al (1990), certains auteurs se basent sur la composition des huiles

essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles

appartiennent.

I.3 Le charançon du blé Sitophlilus granarius (L.)

I.3.1 La phylogénétique

Selon Zipcodezoo (2014), le charançon du blé est classé comme suit :

Domaine: Eukaryota.

Royaume: Animalia.

Phylum: Arthropoda.

**Epiclasse:** Hexapoda.

Infraclasse: Pterygota.

Ordre: Coleoptera.

Superfamille: Curculionoidea.

Famille: Curculionidae.

Genre: Sitophilus.

Espèce: Sitophilus granarius.

Les charançons granivores des céréales sont les insectes les plus fréquents dans les stocks de céréales de tous les pays du monde. Ils font partie de la famille des Curculionidés (**Cruz et** *al.*, 2016).

### I.3.2 Généralitées et description de l'insecte ravageur du blé

Le genre *Sitophilus* renferme deux espèces, *Sitophilus granarius* et *S.oryzae* qui sont devenues cosmopolites avec le développement du commerce des graines (**Lavoisier,2010**).

Ces charançons, connus sous le nom de calandres des grains, sont les insectes les plus nuisibles aux grains entreposés, de blé, de riz... (Lavoisier,2010).

L'œuf: L'œuf des calandres, au chorion très finement chagriné, est blanc, brillant, et légèrement pyriforme. Chez les deux espèces, il mesure de 0,5 à 0,8mm de longueur, salargeur variant entre 0,2 et 0,3mm. (Balachowsky et al., 1936).

La larve : La larve est apode, de couleur blanchâtre et en forme de tranche d'orange (Cruz et al., 2016). Elle est d'une longueur de 2-3mm de long, très bombée en dessus (face dorsale) et plate en dessous(face ventrale) avec une tête brunâtre et hémisphérique et des mandibules à pointes plus foncée et munies d'une dent subapicale interne très prononcée et précédée d'une autre petite dent (Balachowsky et al., 1936).

La nymphe : Avant la métamorphose, la larve se transforme en prénymphe de forme cylindrique, aux trois tergites thoraciques bien distincts des segments abdominaux.

La nymphe, dont la taille est voisine de celle de l'imago, brunit à mesure qu'elle vieillit, son aspect préfigure celui de l'adulte (**Balachowsky** *et al.*, **1936**).

L'adulte: Son corps a une taille de 3 à 4mm de longueur. La tête est prolongée par un rostre aubout duquel se trouvent les pièces buccales broyeuses (mandibules) avec lesquelles ils creusent des trous dans les grains pour se nourrir ou, pour la femelle, y déposer un œuf (Cruz et al., 2016).

Les élytres sont striés et ponctués de gros points, la deuxième paire d'ailes est absente, le thorax est muni de perforations ovales (Rees,2007).

Ces élytres leur confèrent une certaine résistance qui leur permet de se déplacer dans la masse des grains à la recherche de conditions favorables de développement (température, humidité, teneur en oxygène, présence d'impuretés fines...) (Fleusart,2015).

### I.3.3 Le cycle de développement

Les femelles de *S. granarius* pondent 150 à 300 œufs pendant leur vie et les déposent individuellement dans des cavités que la femelle fore dans les grains de céréales et les scelle par un bouchon cireux sécrété par cette dernière (**Longstaff, 1981**).

L'embryon se développe pendant environ 4-14 jours avant l'éclosion, en fonction de la température et de l'humidité (**Longstaff**, **1981**).

Il y a quatre stades larvaires, la larve du premier stade larvaire en s'alimente en creusant un tunnel dans la graine (Longstaff, 1981).

En fin de cycle larvaire, une « loge » plus grande est creusée par la larve de dernier stade (L4) pour contenir la nymphe au moment de la métamorphose.

A 21° et à 70% d'humidité, les premières larves de *S. granarius* se nymphosent le 36eme jour après la ponte, et les dernières le 55eme jours (**Balachowsky et** *al.*,**1936**).

À la fin de développement l'adulte creuse son chemin hors de la graine en laissant un trou d'émergence avec des bords irréguliers (Bousquet,1990; Kirkpatrick et al., 1965).

Les adultes vivent 7 à 8 mois dans les silos de stockage, se déplaçant autour de la masse de grains tout au long de la journée (**Hagstrum et** *al.*,**2012**).

Le seuil thermique minimal du développement se situerait autour de 11°C et le seuil thermique maximal est de 34 à 35°C (**Balachowsky et** *al.*,**1936**).

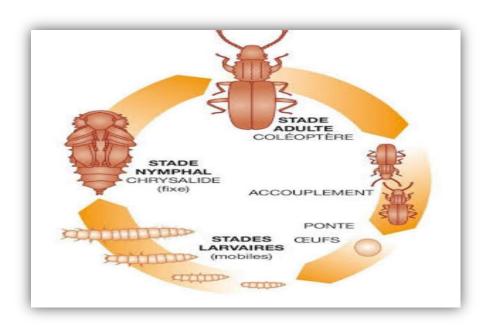


Figure.04 : Cycle évolutif de l'insecte ravageur le charançon de blé (Anonyme,2002).

### I.3.4 Les dégâts

Les *Sitophilus* sont, sans conteste, les insectes les plus nuisibles aux grains entreposés, non seulement en raison de leurs propres déprédations, mais aussi parce qu'ils ouvrent la porte à tout un cortège de détritivores qui parachèvent leurs dégâts. En dépit des moyens de lutte dont nous disposons à l'heure actuelle, ils commettent encore de grands ravages dans les pays les mieux équipés (**Balachowsky et al., 1963**).

Le développement d'un charançon dans un grain réduit sa masse d'environ 35 à 40%. Le dégât principal est donc fait par les larves en croissance (**Cruz et al., 2016**).

Le niveau des pertes pondérales infligées par les insectes ravageurs primaires dépend étroitement de la densité des insectes. À titre d'exemple, on peut établir une corrélation satisfaisante entre le niveau de population totale (formes libres adultes + formes logées dans le grain) de *S. granarius* et le pourcentage de perte quantitative de grains enregistré tout au long d'une période de conservation de 9 mois (**Fleurat-Leussard**, **2015**).

Dans un lot de 30g de blé, dont 27% des grains contiennent des larves IV de *S. granarius*, la quantité de frass expulsé par celles-ci s'élève, en 24 heures, à 170 mg. (**Blachowsky et al.**, **1936**).

### I.3.5 La lutte contre les insectes des denrées stockées

### I.3.5.1 La lutte préventive

Protection des locaux de stockage

Avant la mise en stock des denrées, il est indispensable de nettoyer correctement les structures de stockage : Balayage correcte des locaux, brossage des murs et colmatage des fissures. Toutes les balayures et détritus rassemblés doivent être détruits car il pourrait constituer un foyer d'infestation. En magasin il faudra traiter les sacs vides et détruire le vieux sac. Comme les locaux de stockage, les alentours des bâtiments, doivent être propres et parfaitement dégagés (Belmouzar, 2004). La désinsection de l'emballage et des locaux de stockages qui doivent être hermétiquement fermés ainsi que la denrée destinée au stockage ; Utiliser un emballage résistant tels que les sacs en polyéthylène doublé, coton que les insectes sont incapable de percer ( Amari,2014).

• Protection de la denrée

Avant la mise en stock, le produit doit être correctement nettoyé, la présence de brisures constitue un élément favorable au développement des insectes.

Tout nouveau lot doit être considéré à priori comme douteux est correctement inspecté car du produit attaqué introduit même en faible quantité peut infester un magasin ou un silo.

La lutte contre les insectes sera souvent vaine si l'on ne considère pas que c'est l'ensemble des structures de stockage des denrées stockées qui doit être correctement tenu et si l'on n'observe pas des principes élémentaires pouvant prévenir les infestations (**Philipe,2006**).

### I.3.5.2 Lutte traditionelle

- Exposition au soleil : L'exposition des denrées, en couches minces, au rayonnement solaire intense favorise le départ des insectes adultes qui ne supportent pas les fortes chaleurs ni la lumière intense (en stock, les insectes se cantonnent souvent dans les zones sombres) (Savadogo et al.,2016).
- Enfumage : Consiste à stocker les grains en épis au-dessus des foyers domestiques.
   L'enfumage permanent du lot (parfois appelé à tort fumigation) ne tue pas les

insectes mais les éloigne et empêche la réinfestation. Cette méthode est pratiquée sur des épis de maïs, du mil, du sorgho, du riz et des arachides (Savadogo et al.,2016).

- Utilisation des matières inertes : Dans des récipients de stockage en vrac (jarres,fûts,greniers) on mélange parfois aux graines de la cendre ou du sable fin, selon des proportions et des pratiques qui varient suivant les régions. Ces matériaux pulvérulents remplissent les vides entre les grains et constituent une barrière à la progression des femelles cherchant à pondre. Ces matériaux fins auraient également un rôle abrasif sur les insectes et entraineraient leur déshydratation (Savadogo et al.,2016).
- Conservation en atmosphère confinée: Elle consiste à appauvrir en oxygène
   l'atmosphère inter-granulaire jusqu'à un taux létal pour les insectes. On peut utiliser
   un silo enterré ou un fût de 200 litres hermétiquement fermé (Savadogo et al.2016).

### I.3.5.3 Lutte biotechnique (lutte par confusion sexuelle)

Cette technique consiste à multiplier le nombre de points d'émission du bouquet de phéromones sexuelles de telle sorte que les mâles attirés soient dans l'incapacité d'identifier et localiser la femelle de la même espèce (**Fargo &** *al.*,1994).

### I.3.5.4 La lutte biologique

Depuis longtemps, les plantes aromatiques ont été utilisées pour des fins médicaux ; elles sont traditionnellement utilisées pour protéger les graines entreposées (Sanon & al.,2002). Actuellement, la lutte biologique est la méthode la plus favorisée dans les programmes de recherche vus ses intérêts économiques et agro-environnementaux qui permettent le maintien d'un équilibre bioécologique (Amari,2014).

Elle consiste à combattre les insectes ravageurs en utilisant leurs ennemis naturels dont les parasitoïdes, les bactéries, les virus, les champignons, les protozoaires, les nématodes (**Kumar,1991**).

### I.3.5.5 Lutte physique et mécanique

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 : l'écrasement mécanique dans les « Entoletr », le traitement par le froid et le chaud, le stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée et les radiations ionisantes. ( Benayad,2013), Par la désinsectisation par les rayons gamma, à hautes doses provoque la mort de tous stades de développement de l'insecte (Diop & al., 1997), par contre son exposition à des doses faibles entraine sa stérilité (Dongret & al., 1997). Et on a les Radiations non ionisantes Tels que les infrarouges et les radiofréquences qui permettent de chauffer les produits infestés à une température létale pour tous les insectes qui s'y trouvent quelle que soit l'espèce ou le stade de développement (SINGH & al., 1988).

### I.3.5.6 La lutte chimique

La lutte chimique consiste en l'utilisation de produits chimiques appelés pesticides comme les insecticides contre les insectes (Ferrer,2003).

Depuis la venue des composés organiques de synthèse, on regroupe les insecticides en insecticides organiques (les organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes) représentent la grande majorité des insecticides organiques de synthèse qui ont été employés ou sont utilisés actuellement, et inorganiques (généralement à base d'arsenic ou de fluosilice, sont aujourd'hui prohibés) (**Ducom,1987**).

La plupart de ces insecticides nécessite des équipements de protection individuelle pour leur application; par conséquent ils doivent être appliqués par des professionnels ou du personnel entraîné et loin des cours d'eau (MINADER, 2013).

Actuellement, aucun groupe parmi les organophosphorés, organochlorés, neonicotinoïdes, les carbamates n'échappe à la résistance aux insectes et les espèces du genre Sitophilus sont parmi celles qui sont le plus citées dans la résistance aux pesticides (**Odeyemi** *et al.*, **2010**).

### Inconvénients

L'application des insecticides doit être renouvelée, entraînant des dépenses répétitives. La rémanence, la non biodégradabilité et la bioamplification de certains insecticides sont de véritables problèmes pour l'environnement non sans conséquences sur la santé humaine du fait des résidus chimiques retrouvés dans nos aliments (Ferrer,2003; Zeinab et al., 2011; Zendehdel et al., 2014).

Les pesticides posent un problème de contamination de la biosphère à court ou à long terme, selon la nature de la molécule utilisée dans les traitements et selon la manière avec laquelle ils sont appliqués. Les études consacrées à la dispersion des pesticides dans l'environnement ont prouvé la présence de ces produits dans plusieurs points de la biosphère qui n'ont subi aucun traitement (**Tunc et Sahinkaya,1998**).

L'utilisation des insecticides chimiques conduit aussi à un désordre écotoxicologique qui est accompagné d'une augmentation spectaculaire du nombre d'espèces devenues résistantes aux insecticides chimiques (Isman,2000). La dégradation naturelle et spontanée des pesticides chimiques est extrêmement rare, la cinétique de disparition par voie biologique d'un pesticide dans le sol débute toujours par une période de latence, plus au moins longue, au cours de laquelle la dégradation est pratiquement nulle (Benayad,2013).

Tous ces produits phytosanitaires ont une caractéristique en commun : ils sont neurotoxiques. Des résidus de pesticides ont été détectés dans de nombreux secteurs de la chaine alimentaire : il a été prouvé que le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) a une demi-vie de 10 ans dans l'eau et de 40 ans dans le sol exposé (Lee *et al.*, 2001).

# ChapitreII : Materiels Et Méthodes

Notre étude est consacrée à l'analyse de l'attaque d'un ravageur primaire qui est *Sitophilus* granarius sur des grains de blé dur stockés.

Le but de cette étude est de trouver une méthode alternative fiable pour la protection des denrées stockées contre ce ravageur.

### II.2 Matériels et Méthodes

### II.2.1 Matériels:

### II.2.1.1 Matériel animal

Les adultes des insectes utilisés *Sitophilus granarius* femelles agées 40 jours (**fig.04**) proviennent des élevages de masse réalisés avec des grains de blé dur au niveau du laboratoire de parasitologie de la station expérimentale de la faculté de biologie, de l'Université Saad Dahleb de Blida.



Figure.05 : Adulte de Sitophilus granarius vue dorsale sous loupe binoculairex 10 (originale, 2020).

les céréales utilisées dans ce travail se composent de grains de blé dur stockés, provenant de la station de CCLS (coopérative des céréales secs et des légumes sec) de Sidi Abdelkaderwilaya de Blida.

Nous avons utilisé cette variété de blé parce qu'elle est la plus demandée et la plus utilisée dans la wilaya.

### II.2.1.2 Matériel végétal

La plante testée utilisée dans notre expérimentation est la plante du thym *Thymus vulgaris*,

L'huile essentielle est obtenue suite à une extraction par la méthode d'hydrodistillation de la partie aérienne de la plante (tiges, feuilles et fleurs).

La récolte de la plante (Thym) a été effectuée au niveau de la wilaya de Djelfa en Periode Estivale.



Figure.06 : la plante de *Thymus vulgaris* sèche (Original,2020)

### II.2.2 Méthode

### II.2.2.1 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

### **Principe**

L'hydrodistillation par un appareil de type Clevenger consiste à laisser baigner directement la partie aérienne de la plante du thym dans une enceinte (un ballon ) d'eau, à qui les vapeurs aprés chauffage à ébullition entrainent au fur et à mesure des particules légères qui se condensent sur les paroies plus froides (réfrigérant) du serpentin, ainsi ces essences seront récupérés par décantation à partir d'un récipient gradué relié à ce dispositif. Ce recipient comporte à la fois de l'eau avec de l'huile essentielle flottante (moins dense) qu'il faut séparer (fig.06).



Figure.07: Montage d'hydrodistilation (clevenger)(Boukhatem et al.,2010).

dans ce travail, l'extraction a été réalisée sur 50 g de poudre de la partie aérienne de *Thymus vulgaris*, qu'on a versé dans un ballon contenant 500 ml d'eau distillée et qu'on a laissé boullir durant 3 heures.

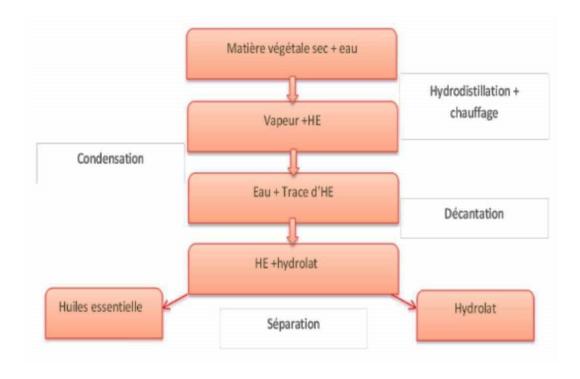


Figure.08: Protocole expérimentale de l'extraction de l'huile essentielle du thym (Anonyme,2018).

#### II.2.2.2 Test de l'activité insecticide de l'huile essentielle de Thymus vulgaris

Les tests de toxicité de *Thymus vulgaris* sur *Sitophilus granarius* sont effectués selon un mode de traitement par contact.

Les doses utilisées sont les memes que celles testés par Bounechada et Arab (2011) contre un ravageur de stock à fin de comparer les résultats obtenus par l'utilisation de Melia à celle de Thym. (**Tableau 02**).

**Tableau 02 :** Doses utilisées dans le test de contact pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

Dosesµl/ml	D1	D2	D3
	0,3	0,5	0,7

Les solutions à différentes doses ont été préparées avec une solution mère de solution stock de tween 80 à 3%.

Le Tween 80 assure une solubilité complète et rapide de l'huile essentielle qui nous procure des solutions homogènes et une bonne répartition de notre huile essentielle. La solution mère de kwin 80 est réalisée par la dilution de 100 ml de Tween pure dans 100ml d'eau distillée.

# II.2.2.3 Évaluation de la mortalité des adultes de Sitophilus granarius par effet contact

Après préparation des doses, chaque solution a été répondue uniformément sur un disque de papier filtre préalablement placé dans de grandes boites de pétri en verre, et du même diamètre (11cm), en fonction de la taille de l'insecte pour garantir sa nutrition et sa respiration.

Après évaporation du solvant de dilution, un lot de 10 insectes adultes d'une population homogène ont été introduits dans chaque boîte de Pétri. Ces boites ont été fermées par un parafilm pour éviter la fuite des insectes, et déposées par la suite dans un endroit humide.

Nous avons réalisé deux répétitions pour les trois doses de l'huile essentielle de thym testé, et de même pour le témoin non traitée par l'huile essentielle (**figure08**).

Un comptage des insectes morts est réalisé après ce traitement à raison d'un enregistrement toutes les 60 minutes .





**Figure.09 :** Dispositif expérimental des essais par contact de l'HE de thym contre *Sitophilus granarius* (originale,2020).

# II.2.2.4 Exploitation des résultats

## • Evaluation du rendement en huile essentielles

Le rendement de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* éxprimé en gramme par rapport à 100g de matière végétale sèche.

## Correction de la mortalité

L'efficacité de cette huile essentielle est évaluée par la mortalité. Les résultats des tests effectués ne représentent pas uniquement la mortalité causée par l'huile mais il y a aussi la mortalité naturelle.

Cette mortalité est corrigée par le biais de la formule d'**Abbott** (1925)

$$MC (\%) = \frac{MT - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

- MC %: pourcentage de mort.

- Mt : pourcentage de population de témoins obtenus .

- MT : pourcentage obtenus dans la population traitée.

#### • Calcul des doses létales

Les valeurs des temps létaux et des doses létales sont déduites à partir des tracés des droites de régression dans les courbes de l'évolution proportionnelle des probits en fonction du log des doses (**Finney,1971**).

#### ➤ Détermination des doses létales DL<sub>50</sub> ,DL<sub>70</sub> et DL<sub>90</sub>

Pour estimer l'effet insecticide de notre huile essentielle, on a procédé au calcul des DL50 et des DL90 qui représentent les concentrations entrainant la mortalité respectivement de 50%,70% et 90% d'individus d'un même lot. Dans ce travail, les doses létales DL50 ,DL70 et DL90 (distruction maximal) ont été calculée directement par le logiciel R sur la base des mortalités observées et mortalitées corrigées.

## • Analyse statistique

La corrélation entre la cinetique de l'effet insecticide de l'huile essentielle de *Thymus* vulgaris sur Sitophilus granarius avec les doses utilisées a été étudiée sur la base d'une analyse des composantes principales (ACP) afin de grouper les meilleurs parametres à effet biocide en temps et en doses. Cette analyse est réalisée par le logiciel statistique PAST qui nous permit de grouper les paramètres étudiés (temps et doses) selon un gradient d'éfficacité aux axes 60% et 40%.



## III.1 Résultats

## III.1.1 Rendement en huile essentielle de Thymus vulgaris

Le rendement de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* éxprimé en gramme par rapport à 100g de matière végétale sèche :

Tableau 03: les rendements en huile essentielle du Thym

	R1	R2	R3
Échantillions			
récoltés à la fin du	3,01g	2,78g	2,69g
printemps			
( Fin Mai)			
Échantillions			
récoltés en été	4,05g	4,11g	4,383g
( mois de Juin)			

On remarque que les huiles essentielles obtenues ne représentent qu'une petite fraction qu'on récupère sur 100g de matière sèche de la poudre utilisée pour l'extraction par hydrodistillation.

## III.1.2 Teste de l'activité insecticide de l'huile essentielle du thym

L'activité insecticide a été étudiée sur la mortalité des adultes de *Sitophilus granarius* après traitement par contact.

#### III.1.2.1 Evaluation de la mortalité des adultes de Sitophilus granarius par effet contact

Aprés chaque 1h, un comptage des adultes morts est effectué (**Tableau 03**). Les résultats obtenus par effet de contact montrent une diminution considérable du nombre d individus insects dans la population traitée dans toutes les doses testées.

# III.1.2.2 Evaluation de la moyenne de la mortalité observée

<b>Tableau V7.</b> Ia invivenne de la invitante observee en boutechages	Tableau 04:la mo	yenne de la mortalité	observée en	pourcentages.
---	------------------	-----------------------	-------------	---------------

Heures Doses	1h	2h	3h	4h	5h
Temoin	5	5	5	5	5
D1	40	70	75	85	100
D2	40	65	85	95	100
D3	40	55	75	85	100

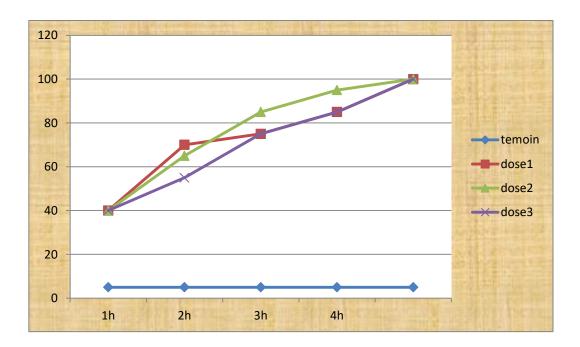


Figure.10 : Taux des moyennes de mortalité observée.

En effet, le pourcentage de mortalité est de 40% à la D1 aprés 1h qui représente presque la moitié de la population traitée. Et après 3h, ce pourcentage avoisine celui obtenu pour les doses D2 et D3 et correspondent aux valeurs respectives 85% et 75% de mortalité (Tableau 04).

Il ressort dans l'ensemble des résultats mentionnés dans le tableau 4 que l'huile essentielle du thym a engendré un pourcentage de mortalité allant de 40 à 100% pendant 5h, et ce de la plus faible à la plus forte dose  $0.3\mu L/ml$ .  $0.5\mu L/ml$  et  $0.7\mu L/ml$ .

A partir du tableau on remarque qu'à la plus faible dose, le pourcentage de mortalité est hautement significatif car il correspond à la mort de prèsque de la moitié de la population.

# III.1.2.3 Mortalité corrigée

**Tableau 05:** le pourcentage de mortalité corrigée comparativement au temoin selon la formule d'Abbott.

Heures	1h	2h	3h	4h	5h
Doses					
D1	36,842105	68,421053	73,684211	84,210526	100
D2	36,842105	63,157895	84,210526	94,736842	100
D3	36,842105	52,631579	37,684211	84,210526	100

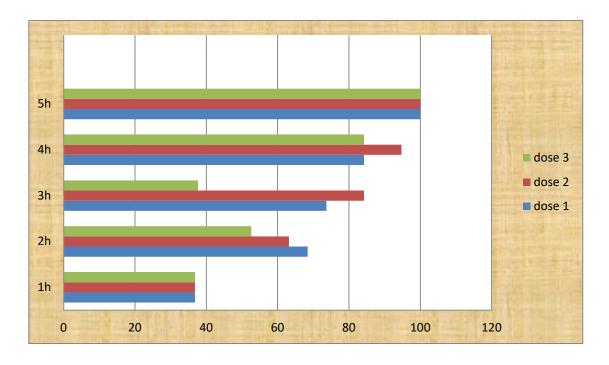


Figure.11 : Taux de mortalitées corrigées selon la formule d'Abbott.

Nous constatons que l'huil essentielle du thym à différentes doses provoque une importante mortalité, elle oscille entre 36 et 100% par rapport au témoin où le taux de mortalité est de 5%.

#### III.1.2.4 Calcul des doses létales

La toxicité de l'huile essentielle de thymus utilisée et sa létalité conte l'insecte *Sitophilus* granarius est mise en évidence grâce aux résultats obtenus après avoir calculé la DL50,DL70 et DL90 (**Tableau 06**).

Tableau 06: Les doses létales qui tuent 50%, 70% et 90% de la population traité

Heure	1h	2h	3h	4h
Dl μl/ml				
D150	0,518±0,18	1,130±1,37	0,47±1,48	0,27±39,5
D170	0,086±0,49	0,36±0,45	0,02±0,8	0,28±14,75
D190	0,5±1,14	0,73±2,65	0,62±0,34	0,31±20,46

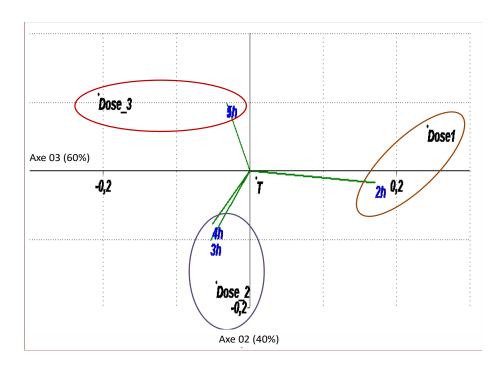
On note qu'aprés 1 h de traitement seulement, des doses très faibles ont été suffisantes pour enregister une DL50, une DL70 et une DL90 correspendant aux doses à 0.518µl/ml,0.086µl/ml,0.5µl/ml respectivement.

Ces valeurs montrent que l'activité insecticide de l'HE du thym diffère selon la dose utilisée.

#### III.1.2.5 L'analyse statistique (Corrélation)

L'analyse des compsantes principales aux axes 60% et 40% nous a permit de déduire la durée et le temps idéal pour l'essai biocide effectué, en classant nos paramètres en trois grands groupes :

- Le premier, il groupe les paramètres ayant donné les meilleurs résultats (en rouge) à savoir : la dose 3 (la plus forte) après 5h de traitement.
- -Le deuxième groupe, il renferme les paramètres à efficacité moyenne sur l'insecte et qui correspondent à la deuxième dose après 3h et 4h de traitement.
- Le troisième groupe, il conserne les paramètres à effet insecticide faible tels que la dose 1 après 2 heures de traitement (proche de l'axe des temoins). Quant aux résultats de la première heure (durée minimale de traitement), ils n'ont pas été pris en considération car ils recèlent les mêmes taux de mortalitée aux différentes doses.



**Figure. 12 :** Corrélation entre les doses utilisées et la durée de traitement contre *Sitophilus* granarius (ACP/PAST)

### **III.2 Discussion**

Les plantes aromatiques médicinales sont considérées, d'après leurs constituants en huiles essentielles, comme un bio-insecticide qui permet de lutter contre une variété d'insectes et ravageurs des stocks (**Kethoet al., 2004**).

Ainsi Markham et al (1994) estimaient que les coléoptères sont de loin le groupe le plus important au sein des insectes ravageurs des stocks au Bénin et en Afrique c'est le cas aussi des anquêtes réalisées par Barrier-Guillot et al (Barrier-Guillot et al.,2014) en France.

Les Lamiacées sont l'une des grandes familles de plantes utilisée comme cadre pour évaluer la concurrence de métabolites secondaires typiques (Wink,1993). la plupart des Lamiacées accumulent des terpènes et une gamme d'autres composés dans les glandes épidermiques des feuilles, des tiges et des structures reproductives (Hajlaoui *et al.*, 2009).

Dans le cas de la présente étude, l'huile essentielle du thym peut être considéré comme un bio pesticide et pourrait être utilisée en plein champs ou au niveau des entrepôts et des stocks de graines de légumineuses. D'après les études faites par Regnault-roger et Hamraoui en 1997, les huiles essentielles extraites de différentes plantes aromatiques ne provoquent pas toutes, une inhibition de la fécondité d'*Acanthoscelides obtectus*. Par contre, les huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris* perturbent la reproduction d'*Acanthoscelides obtectus* et de *Tineola bisselliella*, en inhibant totalement la fécondité (**Rengnault–Roger.**, 1994).

De par leur innocuité et leur faible toxicité pour l'homme (**Djossou,2006**), ces plantes à utilités alimentaire et médicinale constituent une alternative pour la conservation des denrées stockées. Des études réalisées en Afrique et particulièrement au Nord du Cameroun dans plusieurs agrosystèmes, révèlent que les producteurs utilisent des pratiques traditionnelles dont les extraits des plantes à effet insecticide et/ou insectifuge pour la conservation des produits agricoles en particulier le maïs et le niébé (**Ngamo et al.,1981**).

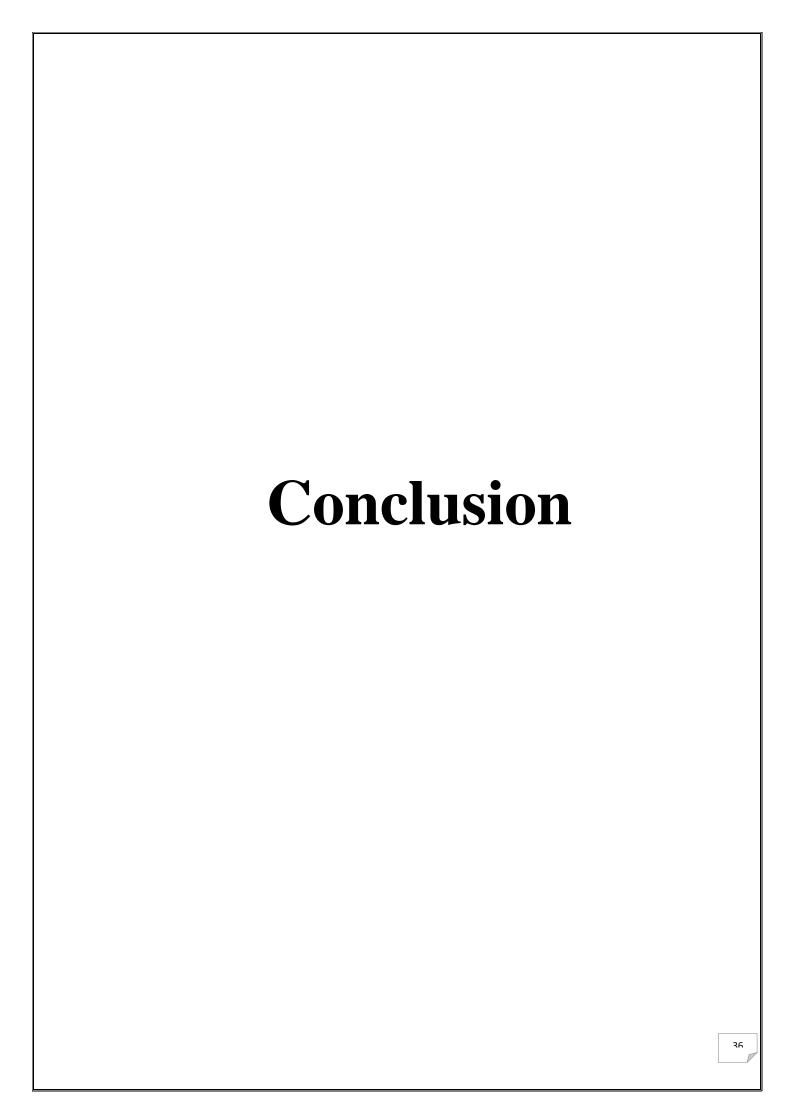
Nos résultats sont comparables voir plus élevés que les mortalités enregistrés sur un insect du même genre par l'application de l'huile essentielle de la même plante. Selon **Kechout** (2001), l'huile essentielle du thym est très efficace contre *Sitophilus arysae L*, avec un taux de mortalité évalué à 85%. Des essais par **EL GUEDOUI** (2003) sur l'efficacité des huiles essentielles du romarin et de thym sur *Rhysopertha dominica* par contact et par inhalation ont

montré l'effet insecticide de ces deux huiles. En effet le romarin s'est montré efficace par contact à la dose de 1,348 mg/cm2 en provoquant 89,72% de mortalité alors que le thym à la même dose donna un taux de 100% de mortalité (**El Guedoui, 2003**).

En revanche, les travaux réalisés par **khalfi-Habes** (2007), on montré que 9 huiles essentielles (Genévrier, l'armoise, faux poivrier, laurier, l'eucalyptus, thym, romarin, l'origan, et la menthe) manifestent une activité insecticides par contact relativement variable selon les plantes vis-à-vis de *R.dominica* à la plus forte dose des huiles essentielles provoque une mortalité élevé de 70%, 100%, 52%, 100%, 100 %, 93.1% 93.1% 100 %, et 100% respectivement.

En effet, Khalfi-habes et ses collaborateurs (2010), montrent que les huiles essentielles de trois plantes aromatique (L'origane, Romarin, thym) de la famille des Lamiacées provoquent une toxicité élevée par contact- inhalation sur *Rhyzopertha dominica* avec de faibles DL50 (thym avec une DL50= 0.522 mg/cm2).

Les valeurs de DL50 et de DL90 montrent que l'huile essentielle *Thymus vulgaris* possède une activité insecticide vis-à-vis de *Sitophilus granarius*. De ce fait, nous constatons que l'huile essentielle du thym possède un effet toxique contre les adultes de *Sitophilus granarius* comme un insecticide à effet par contact. Après une soumission des adultes à différentes doses de cette huile essentielle, un taux de mortalité significatif a été enregistré selon la dose et la durée d'exposition.



### **CONCLUSION**

L'insecte *Sitophilus granarius* est considéré comme un ravageur redoutable des denrées stockées. La lutte chimique contre ce ravageur, présente un problème écologique et un inconvénient majeurs pour l'équilibre des écosystèmes des milieux naturels. En plus, les produits chimiques présentent des taux de toxicité très élevés induisant des problèmes sur la santé humaine.

Pour pouvoir proposer aux consommateurs des aliments de bonne qualité et sans traces de pesticides, il est indispensable de rechercher des méthodes alternatives, voire même traditionnelles, non chimiques et surtout respectueuses de l'environnement.

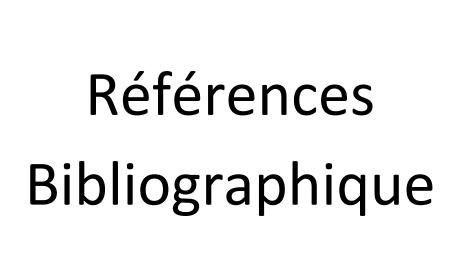
Notre étude propose l'huile de thym *Thymus vulgaris* comme biopesticide d'origine végétale contre l'insecte ravageur *Sitophilus granarius*. Nous avons testé son efficacité à travers un mode de pénétration par effet contact .A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'huile essentielle du thym testée présente une activité insecticide sur l'espèce de charançon de blé, qui dépend de la dose utilisée.

Les valeurs obtenues montrent que l'activité insecticide de l'huile essentielle du thym dépend de la dose utilisée, L'efficacité de cette huile essentielle sur *Sitophilus granarius* est évaluée par les doses létales. En effet, la DL50 obtenue confirme que cette huile a une activité insecticide à une dose de 0.5µl/ml avec laquelle nous avons obtenu la mort de 50% de la population des insectes.

Vu que la plante n'est pas nuisible, il serait préferable de l'utiliser comme insecticide mais attention de faibles doses sont dejà suffisantes donc il ne faut pas arracher de très grande quantités pour les utiliser sinon on déséquilibre l'environnement, on peut les diluer à la DL90.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussée de l'activité insecticide. Il serait nécessaire de compléter l'étude avec des tests de toxicité de même huile essentielle sur les principales espèces d'insectes ravageurs des grains, des céréales (Rhyzopertha dominica et Sitophilus orzeya) et des légumineuses stockées (Callosobruchus maculatus et Acanthoscelides obtectus). Aussi par caractérisation de l'huile essentielle de Thymus vulgaris par chromatographie liquide à haute performance HPLC et d'isoler le principe actif de cette plante à base duquel on pourra mettre en évidence sur terrain de

nouveaux biopesticides non d'action de ces substances su		
nerveux).		



**Abbott W.S.,1925**. A method for comuting the effectiveness an insecticide journal .Ecological Entomology.18,265-267p.

**Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F., 2006**. Antibacterial effects of nutraceutical plants growing in Palestine on Pseudomonas aéruginosa. Turk. J. Biol, 30, 239-242p.

**AFNOR** (**Association Française de Normalisation**)., **2000**. Recueil des normes françaises "huiles essentielles". Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris.

Amari N., 2014. Etude du choix de ponte de la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et de pois chiche, et influence de quelques huiles essentielles (Cèdre, Ciste, Eucalyptus) sur activité biologique de l'insecte. Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Algérie. mémoire de magistèr. 83p.

**Amiot J., 2005**. *Thymus vulgaries*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de montpellier. France.

**ANONYME.,2002**. Pharmacopée européenne. 4ème édition, Strasbourg.

**ANONYME., 2018**. Activité insecticide du thym( *thymus vulgaris* )sur un insect des stoks *callosobruchus maculatus*(*coleoptera bruchidae*). Akli Mouhand Oulhadj Bouira. Algérie. Mémoir de master. 55p.

**ANTON R., LOBSTEIN A.,2005**. Plantes aromatiques. Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris (France)..BRUNETON, J.1993, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2ème édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 915p.

-B-

**BALACHOWSKY A., MESNILL.,1936**. Les insectes nuisibles aux plantes cultivées leur mœurs, leur identification. Ed 15.1847.1854p.

Barrier-Guillot B., Dauguest S., Ducom P., Leblanc M. P., Crépon K., Férot E., Bonnery A., Ciesla Y., Fleurat-Lessard F., 2014. Economie et innovation en protection raisonnée des céréales contre l'infestation par les insectes au stockage. Innovations Agronomiques 34.67-82p.

**Bazylko A. et Strzelecka H., 2007**. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. Fitotherapia., 78. 391-395p.

**BELMOUAZ A., 2004**. Contrôle phytosanitaire et surveillance des denrées stockées. Agréage et protection phytosanitaire. Ed. O.A.I.C. (Office Intrprofétionnel des Céréales) . 18-34p.

**Benayad N.,2013.**Caractirisation chimique et evaluation insecticide des huiles essentilles de *Mentha suaveolens L.* et *M.pulegium L.* cultivées au Maroc.13(1).27-32p.

**Bessedik, M et Khenfer. B., 2015**. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (Phoenix dactylifera L). Mémoire Master Université Kasdi Merbah OUARGLA . 51p.

**Boukhatem M-N., Hamaidi M-S., Hakim Y., Saidi F., 2010**. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Nature et technologie, Blida; Algérie. 37-38-39p.

**Boulos L., 1993.** Medical plants for North Africa. Box 344.268p.

**Bounechada M.Arab R.,2011.**Effet insecticide des plantes Melia azedarach et Peganum harmala sur Tribolium castaneum (coleoptera).Univ Ferhat Abbas.Sétif.6p.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. & Chaabouni M.M., 2008. Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. J. Soc Pharmacognosie. Chim. Tunis. 119-125p.

- C-

**Cowan M.M.,1999**. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews., 12 (4) . 564-570.

**CSKE L.J., KAUFMAN P.B., Warber S., Duke J.A., 1999**. How and why plants synthesize these compounds. Natural Products from Plants. 37-90p.

-D-

**DEGRYSE A.C., DELPLA I., VOINIER M.A., 2008**. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement-IGS-EHESP. 87p.

**Diop B., Wilps H. 1997**. Field trials with neem oil and *Melia volkensii* extracts on *Schistocerca gregaria*. 201-207p.

**Djermoun A., 2009**. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques Revue Nature et Technologie. n° 01. 45-53 p.

**DJOSSOU J., 2006.** Etude des possibilités d'utilisations des formulations à base de fruits secs de *Xylopiaaethiopica Dunal* (Annonaceae) pour la protection des stocks de niébé contre *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). Mémoire online, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux Belgique.

**DUCOMP., 1987**. Traitement par fumigation. In: les insects et les acariens des cereals stockées. Normes et thechnique des céréales et des fourrages. AFNOR-ITCF.138-164p.

-E-

Eberhard T., Robert A., Annelise I., 2005. Plantes

aromatiques :épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edmédicales internationales . 475-480p.

**EL-GUEDOUI R., 2003**. Extraction des huiles essentielles du romarin et du thym. Comportement insecticide de ces deux huiles sur *Rhyzopertha dominica* (Fabricus) (coleoptera, bostrychidae). Thése ing., ENP., El-Harrach. Alger. 76p.

**ENOBAKHARE D. A., 2007.** The use of leafpowders of *Ocimum gratissimum* and Vernonia amygladina for the management of *Sitophilus oryzae(L.)* instoredrice. J. Entomol. 4. 253-257p.

**FAO.,2012.**Pertes et gaspillages alimentaires dans le monde – ampleur,causes et prevention.Rome.

Ferrer A., 2003. Pesticide poisoning. An Sist Sanit Navar. 26(1). 155-171p.

**FRRANCHOMME P., PENOEL D., 1990**. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Edition Roger Jallois. Limoges.France. 445p.

-g-

**GILDO P., 2006**. Précis de phytothérapie. Larousse Encyclopédie MEMO. Edition Alpen. 34p.

**Goetz P., Ghédira K.,2012**. Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Science & Business Media.394p.

-4-

Haddaf Y., Kaloustian J., Giordan R., Regli P., Chefrour A., Abou L., Mikail C., Portugal H., 2004. Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris L.* et de *Thymus numidicus* Poiretd'Algérie. 6th symposium international d'aromathérapie scientifique et plantesmédicinales. Grasse. France.

**Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., Bakhrouf S., 2009**.Biological activities of the essential oils and Methanol extract of two ciltivated mint species(*Mentha logifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian Folk lorc mediene. Springer science. World J Microbiol Biotechnologie.25(12).2227-2238p.

Haraguchi H.,Saito T.,Ishikawa.,Date H.,Kataoka S.,Tamura Y.,Mizutani K.,1996. Antiperoxidative components *in Thymus vulgaris*. Planta Medica. 62.217-221p.

**Haubruge E., Shiffers B., Gabriel E. & Verstraeten C., 1988**. Etude de la relation dose efficacité de six insecticides à l'égard de *Sitophilus granarius L., S. oryzae* L., *S. zeamais* Mots. (Col., Curculionidae). Med .Fac .Landbouww Ryksuniv.Gent 53.719 -726p.

-9-

**Iserin P., Vican P., 2001**. Encyclopédie des plantes médicinales :Identification, préparations, soins. Larousse édition. Paris.335p.

**ISMAN M.B., 2000** . Plant essential oils for pest and disease management, Crop Protection.  $N^{\circ}$  19. 603-608p.

-g-

Johnson T., 1998. CRC ethno botany desk reference. CRC Press. 1224p.

-7-

**Kabouche A., Kabouche Z., Bruneau C., 2005**. Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria . Flavour and fragrance Journal. 20.235-236p.

**Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Portugal H.,2003.** Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (Thymus vulgaris). Therm. Ochimica. Acta. 401.7786p.

**Keane S., et Ryan MF. 1999**. Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, Gallenia mellonella (L.). Insect biochemistry and molecular biology .Vol29(12) .1097-1104p.

**KECHOUTE F., 2001**. Efficacité de trois extraits végétaux et de deux insectes vis-à-vis de *Sitophilus oryzae L*. (Coleoptera, Curculionidae). Thèse ing. sci. Arg. INA. El Harrach.30-35p.

**KETHO G.K., GLITHO I., KOUMAGLO A., 2004**. Activité insecticide comparée des huiles essentielles de trois espèces de genre *Cympobogongenus* (poaceae). J. Soc. Ouest. Afr. Chim. 18. 21-34p.

**Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M.,2004**. Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. Phytochemistry. 65.3279-3287p.

**Kouassi M.,2001**. Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignonentomopathogene *Beauveria bassiana*. Rev. Sc. Env,2.

**Kumar R., 1991**. La lutte contre les insectes ravageurs. La situation de l'agriculture africaine. Editions Karthala et CTA. Pays-Bas. Paris. 310 p.

-1-

**Lee B., Choi W., Lee S., Park B., 2001**. Toxicité fumigante des huiles essentielles et de leurs composants vis-à-vis du charançon du riz, *Sitophilus oryzae (L.)*.20(4).317-320p.

-M-

Markham R., Bosque-Perez N., Borgemeister C., Meikle W., 1994. Developing Pest Management Strategies for *Sitophilus zeamais* and *Prostephanus truncatus* in the Tropics.FAO.Rome.Italy.

MINADER., 2013. Liste des pesticides homologues au Cameroun au 31 juillet 2013. Ministère de l'agriculture développement rural-Cameroun commission nationale d'homologation des produits phytosanitaires et de certification des appareils de traitement. Ministère de l'agriculture développement rural. Cameroun. 1-40p.

**Morales R., 2002**. the history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Thyme: the genus *Thymus*. Ed. Taylor & Francis. London. 1-43p.

-M-

Namsa N.D., Tag H., Mandal M., Kalita P., Das A.K., 2009. an ethno botanical study of traditional anti-inflammatory plants used by the Lohit Community of Arunachal Pradesh, India. Journal of Ethno pharmacology. 125. 234-245p.

Odeyemi O., Ashamo M., Akinkurolere R., Olatunji A., 2010. Resistance of strains of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) to pirimiphos methyl.10th International Working Conference on Stored Product Protection. Julius-Kühn-Archiv. 425(1). 1-6p.

Özcan M., Chalcha J. C., 2004. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L, growing wild in Turkey. Bulgarian journal of plant physiology. 30 (3-4) . 68-73p.

-P-

**Pariente L., 2001.** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris. 1643 p.

**Pibiri M.C.**,**2006**. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielles .Thèse Doctorat.Lausanne.Canada.177p.

**Poletti A., 1988**. Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. Delachaux&Nistlé S. A. Suisse. 103p.

**Prasanth R., Ravi V.K., Varsha P.V., Satyam S., 2014**. Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. Med Aromat Plants. 3 (4).1-3p.

-2-

**Quezel P., Santa S.,1963.** Nouvelle flore d'Algerie et des régions désertiques méridionales.Ed.CNRS.Paris.

**Relinger L.M., Zettler J.L., Davis R., Simonaitis R.A., 1988**. Evaluation of pirimiphosmethyl as a protectant for export grain. Journal of Economic Entomology.81. 718-721p.

-5-

Sanon A., Dugratvot S., Thibout E., Hugriad J., 2002. Entomologie environmentale. 31(3).550-557p.

of vulgars against alternaria.cite-E-gnosis (online).vol 4.N°16.

**Savadogo S.,SAMBARE O., SEREME A.,THIOMBIANO A., 2016.** Méthodes traditionnelles de lutte contre les insectes et les tiques chez les Mossé au Burkina Faso Journal of Applied Biosciences. 105.10120 –10133p.

Soto-Mondivilea., Morenorodringuers J.F., Esstarronespinozam., Garcia-Fajardoja., Etvazqueze N., 2006. Chemical composition and Fungical activity of essential oil

Stahl-Biskup E., Sàez F., 2002. Thyme: The genus *Thymus*. CRC Press. 346p.

-7-

**Takeuchi H., Lu Z.G., Fujita T., 2004**. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris L*). Bioscience, biotechnology and biochemistry. 68 (5) 1113-1134p.

**Tapondjou A L., Ndomo A F., TendonkengF., Tchouangyep F M., 2009**. Evaluation des proprietés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae)contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera, Bruchidae). Tropicultura.137-143p.

**Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005**. Plantes aromatiques Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 521p.

TRIPATHI P., DWIVEDI S., MISHRA A., KUMAR A., DAVE R., SRIVASTAVA S., SHUKLA M. K., SRIVASTAVA P. K., CHAKRABARTY D., TRIVEDI P. K.,

**TIPATHI R. D., 2011**. Arsenic accumulation in native plants of West Bengal, India: prospects for phytoremediation but concerns with the use of medicinal plants. Environ. Monit. Assess. 284. 2617–2631p.

**Tunc I., Sahinkaya S.,1998.** Sensibilité de deux ravageurs de serre aux vapeurs d'huile essentielle.86(2).183-187p.

-u-

**Viaud H.,1993**.Cité par Michel Van hove.Aromathérapie.www.nature helps.com/France/Viande2.htm.

**Vincent C.,Weintraub P,Hallman GJ,Fleurat-Lessard F.,2009**. Insect management with physical methods in pre- and post-harvest situations. In: Radcliffe EB, Hutchison WD, Cancelado RE. eds. Integrated Pest Management. Cambridge (UK). Cambridge University Prees. 309-23p.

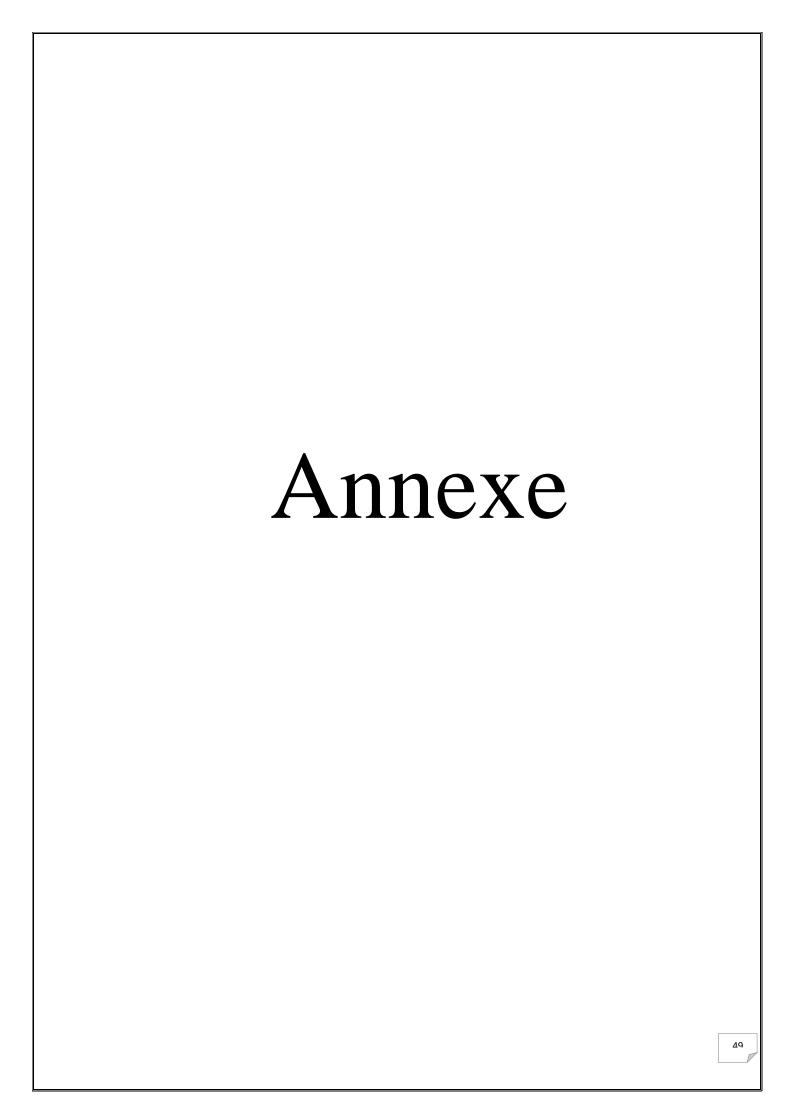
-20-

**Wink M., 1993**. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. In phytochemistry and Agriculture. Vol. 34(T.A.Van Beek and H. Breteler, eds...) clarendon. Oxford .171-213p.

-3-

**Zeinab HM., Al-Targi , Refaat G., Abou El Ela., El-Dressi AY., 2011.** Organochlorine pesticide residues in human breast milk in El-Gabal Al-Akhdar . Libya. Int. Conf. L. Sci. Technol. 3. 1-4p.

**Zendehdel R., Tayefeh-Rahimian R., Ali Kabir A., 2014.** Chronic Exposure to Chlorophenol Related Compounds in the Pesticide Production Workplace and Lung Cancer: A Meta Analysis. A. Pac. J. Cancer Prev. 15.5149-5153p.



# II.2.1.3 Matériel de laboratoire

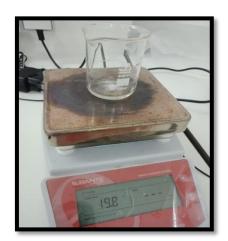


la pesée



Micro pipette

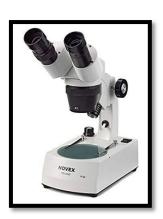




Agitateur magnétique



**Tamisseur** 



loupe