

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

UNIVERSITE DE BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des Biotechnologies

Filière des sciences agronomiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie

Specialité : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et Produit Naturels

Thème :

Etude de l'efficacité des huiles essentielles du pamplemousse (*Citrus paradisi*) et du citron (*Citrus limon*) et de leurs hydrolats à l'égard du puceron noir (*Aphis fabae* S.) de la fève (*Vicia faba* L.).

Présenté par : **Asmaa AIDA**

Devant le jury composé de :

Mr ELHADI.D	Maitre de conférence	U.S.D.B.	Président
Mme MOUMENE	Maitre Assistante	U.S.D.B.	Examinatrice
Melle CHEBATA.N	Maitre Assistante	U.S.D.B.	Examinatrice
Mme BELGUENDOZ.R.	Maitre de conférences	U.S.D.B.	Promotrice
Mr BENDALI.A.A	Maitre Assistant	U.S.D.B.	Co-promoteur

Année universitaire: 2013 - 2014

Résumé :

Notre travail consiste à évaluer l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du citron (*Citrus limon*) et du pamplemousse (*Citrus paradisi*) sur le puceron noir (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*). L'extraction des huiles essentielles et des hydrolats des écorces du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* a été réalisé par hydro distillation. Le rendement en huiles essentielles de deux espèces étudiées est de 2,3%, 1,55% respectivement. Les dilutions d'huiles sont de 3% (D1), 2% (D2) et 1% (D3) et celle des hydrolats sont de 100% (D1), 75% (D2) et 50% (D3). Ces dilutions sont utilisées comme biopesticide contre les pucerons noirs de la fève par deux modes : inhalation et contact. Les trois doses d'huiles essentielles (3%,2%et1%) et des hydrolats (100%,75% et50%), ont exprimés une activité biocide contre le puceron noir de la fève après un temps de 24h jusqu'à 72h par les deux modes de traitement. Néanmoins, l'activité insecticide d'huile essentielle est largement supérieure à celle de l'hydrolat. La dose « D1 » d'huile essentielle et de l'hydrolat ont montrées une meilleure efficacité. L'huile essentielle plus important c'est l'huile de pamplemousse (100% par contact et 96% par inhalation) et ce lui de l'hydrolat (100% par inhalation et 90% par contact) après 72h. Le mode qui a donné une activité insecticide remarquable est le mode par contact.

Mots clés: *Citrus limon*, *Citrus paradisi* , huile essentielle, hydrolat , *Aphis fabae* , *Vicia faba*, bioinsecticide.

Summary:

Our work consists in evaluating the insecticidal activity of essential oils and the medicated water of lemon (*Citrus limon*) and the grapefruit (*Citrus paradisi*) on the black plant louse (*Aphid fabae*) of broad bean (*Vicia faba*). The extraction of essential oils and the medicated water of the barks of the *Citrus limon* and the *Citrus paradisi* was carried out by hydro distillation. The essential oil yield of two studied species is of 2,3%, 1,55% respectively. Dilutions of oils are of 3% (D1), 2% (D2) and 1% (D3) and that of the medicated water are of 100% (D1), 75% (D2) and 50% (D3). These dilutions are used like biopesticidal against the black plant louses of broad bean by two modes: inhalation and contact. The three amounts of essential oils (3%, 2% and 1%) and the medicated water (100%, 75% and 50%) expressed a biocidal activity against the black plant louse of broad bean after a time of 24:00 until 72h by the two modes of treatment. Nevertheless, the insecticidal activity of essential oil is largely higher than that of the medicated water. The amount "D1" of essential oil and the medicated water showed a better effectiveness. Best caused death rate is obtained by the grapefruit oil (100% by contact and 96% by inhalation) and this one of the medicated water (100% by contact and 90% by contact) after 72h. The mode which gave a remarkable insecticidal activity is the mode by contact.

Key words: *Citrus limon*, *Citrus paradisi*, essential oil, medicated water, *Aphid fabae*, *Vicia faba*, bioinsecticidal.

ملخص

العمل الذي قمنا به يتمثل في دراسة فعالية مبيدات طبيعية من أصل زيوت أساسية أو مياه معطرة مستخرجة من صنفين من الحمضيات وهما: الليمون (*Citrus limon*) والليمون الهندي (*Citrus paradisi*) على قملة النبات السوداء (*Aphis fabae*) الذي يصيب نبات الفول (*Vicia faba*). تم استخراج الزيوت الأساسية والمياه المعطرة بطريقة التقطير، مردود هذه الزيوت الأساسية لقشور الليمون والليمون الهندي هو على التوالي 2,3% و 1,55%. بعد استخراج الزيوت والمياه المعطرة قمنا بعملية الإماهة للحصول على ثلاث جرعات حسب الآتي: بالنسبة للزيوت الأساسية الجرعة الأولى 3%، الجرعة الثانية 2% والجرعة الثالثة 1%، أما بالنسبة للمياه المعطرة الجرعة الأولى 100%، الجرعة الثانية 75% والجرعة الثالثة 50%، هذه الجرعات تستعمل كمبيد طبيعي ضد قملة النبات السوداء الموجودة بنبات الفول والمعالجة تتم بطريقتين هما: طريقة الرش على القملة مباشرة وطريقة اللمس أي الرش على ورقة الترشيح ثم وضع مجموعة من قمل النبات الأسود عليها. بعد المعالجة نستنتج أن كل الجرعات سواء من الزيوت الأساسية (3%، 2%، 1%) أو من المياه المعطرة (100%، 75%، 50%) لديها فعالية ضد الحشرة المدروسة بمجرد مرور 24 ساعة وتزداد الفعالية مع مرور الزمن حتى 72 ساعة. إن الجرعة الجد فعالة سواء بالنسبة للزيوت الأساسية أو المياه المعطرة هي الجرعة الأولى وأن الزيت الأساسي المستخرج من قشور الليمون الهندي هو الجد فعال، أما بالنسبة لطريقة المعالجة فإن طريقة الرش هي الأكثر فعالية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، المياه المعطرة، مبيد طبيعي، الليمون، الليمون الهندي، قملة النبات السوداء.

La liste des figures :

Figure 01 :	Morphologie de la fève. a: Fleurs et feuilles ; b: Gousse ; c: Graines	05
Figure 02 :	Production mondiale de la fève	06
Figure 03 :	La rouille(a)et botrytis(b) (ITCMI, 2010)	08
Figure 04 :	Puceron noir	09
Figure 05 :	La forme aptère d' <i>Aphis fabae</i> (MERADSI, 2009).	11
Figure 06 :	La forme Ailé d' <i>Aphis fabae</i> (MERADSI, 2009).	11
Figure 07 :	Fruit du citron	15
Figure 08 :	Fruit de pamplemousse	16
Figure 09 :	Echantillonnage (a) des fruits de pamplemousse (b) et de citron (c) et les écorces obtenus par grattage (d).	25
Figure 10 :	Les pucerons noirs de la fève	25
Figure11 :	Hydro distillation.	27
Figure 12 :	Réalisation de coupes histologique	29
Figure 13 :	Test par contact	34
Figure 14 :	Test par inhalation	34
Figure 15 :	La teneur en eau des écorces du <i>C. limon</i> et du <i>C.paradisi</i>	35
Figure 16 :	Rendement en huiles essentielles du <i>C. limon</i> et du <i>C. paradisi</i>	36
Figure 17 :	Coupe transversale du péricarpe de pamplemousse observé au microscope optique G 100x	36
Figure 18 :	Coupe transversale du péricarpe de citron observé au microscope optique G 100x	37
Figure 19 :	Cristaux d'oxalates de calcium observés au microscope optique à G100X.	37
Figure 20 :	Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)	40
Figure 21 :	Taux temporelle de mortalité par inhalation	40

Figure 22 :	Taux temporelle de mortalité par contact	40
Figure 23 :	Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps)	42
Figure 24 :	Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)	43
Figure 25 :	Taux temporelle de mortalité par inhalation	43
Figure 26 :	Taux temporelle de mortalité par contact	44
Figure 27 :	Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)	45
Figure 28 :	Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse).	46
Figure 29 :	Balance analytique	Annexe 1
Figure 30 :	spectromètre Infra Rouge à Transformer de Fourier (FTIR)	Annexe 1
Figure 31 :	Réfractomètre	Annexe 1
Figure 32 :	Boites de pétrie	Annexe 1
Figure 33 :	Erlenmeyer	Annexe 1
Figure 34 :	micropipette (a) et burette (b)	Annexe 1
Figure 35 :	Spectre IR des huiles essentielles du <i>Citrus limon</i> et du <i>Citrus paradisi</i>	Annexe 2

Liste des tableaux :

Tableau 01:	Les variétés de fèves inscrites au catalogue officiel (Bennasseur,sd).	06
Tableau 2 :	Evolution des superficies, productions et rendements des fèves (2005/2010)	07
Tableau 3 :	Les maladies les plus répandues chez la fève	08
Tableau 04:	Répartition de la production agrumicole algérienne par espèce.	15
Tableau05:	Rendement des huiles essentielles du citron et du pamplemousse	36
Tableau 06:	Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du citron et du pamplemousse	39
Tableau 07:	L'indice d'acidité des huiles essentielles et des hydrolats des deux agrumes.	39
Tableau 08 :	L'indice de réfraction des huiles essentielles et des hydrolats du Citrus limon et du Citrus paradisi	40
Tableau 09 :	Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps).	Annexe 3
Tableau 10 :	Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)	Annexe 3
Tableau 11 :	Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse)	Annexe 3

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie bibliographie

Chapitre 1 : la fève	
1- Généralités.....	04
2- La fève.....	04
3- Classification.....	05
4- Description botanique.....	05
5- Les variétés de fèves.....	05
6- Origine géographique.....	06
7- Constituants de la fève.....	07
8- Utilisation de la fève.....	07
9- Importance économique de la fève.....	07
10- Les maladies de la fève.....	08
11- Les ravageurs de la fève.....	09
Chapitre 2 : le puceron noir	
1- Généralité.....	10
2- Le puceron noir de la fève.....	10
3- Description.....	10
4- Classification.....	11
5- Plantes hôtes.....	12
6- Cycle de vie.....	12
7- Les dégâts.....	12
8- La lutte.....	13
Chapitre 3 : Plantes étudié	
1- Généralités sur les agrumes.....	14
2- Importance économique des agrumes en Algérie.....	14
3- Citrons (<i>C. limon</i>).....	15
3-1- Classification botanique.....	15
3-2- Habitat et culture.....	15
3-3- Description botanique.....	16

4- Pamplémousse (<i>Citrus paradisi</i>)	16
4-1- Classification botanique.....	16
4-2- Historique.....	16
4-3- Description botanique.....	17

Chapitre 4 : Huiles essentielles et l'hydrolat.....

1- Huiles essentielles.....	18
1-1- Définition.....	18
1-2- Localisation des huiles essentielles.....	18
1-3- Le rôle des Huiles essentielles.....	18
1-4- Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	19
1-5- Identification des huiles essentielles.....	20
1-6- Composition chimique des huiles essentielles.....	20
1-7- Propriétés physico-chimique.....	20
1-8- Domaine d'application des huiles essentielles.....	21
2- L'hydrolat.....	22
2-1- Définition.....	22
2-2- propriétés des hydrolats.....	22
2-3- Utilisation.....	22

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthode

1- Objectif.....	24
2- Matériel.....	24
2-1- Matériel végétal.....	24
2-2- Matériel animal.....	25
2-3- Matériel de laboratoire.....	26
3- Méthodes.....	26
3-1- Détermination de la teneur en eau.....	26
3-2- L'extraction des huiles essentielles et des hydrolats par hydro distillation.....	27
3-3- Réalisation de coupes histologique sur les écorces d'agrumes.....	28
3-4- Caractérisation chimique des huiles essentielles et des les hydrolats.....	29
3-4-1- Propriétés organoleptiques.....	30

3-4-2- Propriétés chimiques.....	30
3-4-2-1- Indice d'acidité.....	30
3-4-2-2- Détermination de l'indice de réfraction.....	31
3-4-2-3- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR).....	32
3-5- Test d'efficacité des huiles essentielles et leurs hydrolats sur le puceron noir de la fève.....	32
3-5-1- Préparation des doses.....	32
3-5-2- Application des traitements.....	33

Chapitre 2 : Résultats et discussions

1- Teneur en eau.....	36
2- Détermination du rendement des huiles essentielles du C. limon et du C. Paradisi.....	36
3- Etude histologique des écorces d'agrumes.....	37
4- Les caractéristiques organoleptiques.....	39
5- Détermination de l'indice d'acidité.....	39
6- Détermination de l'indice de réfraction.....	40
7- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR)	40
8- Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats	41
8-1- Evaluation de l'effet des huiles essentielles du Citrus paradisi et du citrus limon par inhalation et par contact.....	41
8-2- Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	43
8-3- Evaluation de l'effet des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	43
8-4- Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	45
8-5- Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles et des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	47
conclusion	48

Références

Annexe

Les pucerons noir sont des ravageurs redoutables pour les plantes cultivées, causent des dommages aux plantes par le prélèvement de la sève et de ce fait des éléments nutritifs, ainsi que par l'action irritante et toxique des piqûres et de la salive injectée (ANONYME, 2009).

Parmi ses plantes hôtes nous situons la fève (*Vicia faba* L) qui est une légumineuse de la famille des fabacées. Elle est essentiellement alimentaire, renfermant des acides aminés nécessaires, les vitamines et divers minéraux. Toutes ces propriétés lui confèrent des fonctions diurétiques, énergétiques, expectorantes, nutritives, reconstituantes et tonique. Les extraits de cette espèce ont été également utilisés dans le domaine médical, notamment comme anticancéreux (AKROUM, 2006).

Ces intérêts économiques et médicaux de la fève, nous ont poussés à penser aux moyens biologiques de contrôle de ces ravageurs. Depuis quelques années la lutte biologique et l'utilisation des bio pesticides occupent une place de choix, car ils prêtent souvent à la production de masse requise pour l'industrie, ces bio pesticides peuvent être à base d'extraction de plante (CHARLE et al, 2000).

Les substances d'origine végétale, en particulier les huiles essentielles, sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages.

Dans le cadre de la recherche sur les procédés de lutte biologique basé sur l'extraction des plantes, et en vue de la valorisation des produits naturels jetés dans la nature tels que les écorces des fruits d'agrumes, nous sommes intéressés à la mise en évidence de l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats des écorces du citron (*Citrus limon* *Eureka*) et du pamplemousse (*Citrus paradisi*) sur les pucerons noirs (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*). Enfin, les objectifs de notre travail sont :

- * Evaluation de l'activité bio insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du citron et du pamplemousse sur le puceron noir de la fève.

- * Protection de la fève qui est considérée comme plante à potentiel nutritionnel et comme plante médicinale.

Ce travail comprend donc deux parties essentielles :

Partie 1 : renferme la recherche bibliographique sur la plante, les huiles et les hydrolats et le ravageur de la fève (Puceron noir : *Aphis fabae*).

Partie 2 : comprend l'extraction des huiles essentielles et des hydrolats du citron et du pamplemousse, détermination des propriétés physique et chimique de deux plantes, l'étude du pouvoir insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus paradisi* et *Citrus limon* *Eureka* sur puceron noir (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*).

1- Généralités

Le groupe des légumineuses à graines comporte un nombre assez important d'espèces. Citons notamment : la fève, le pois, le haricot, la lentille et le soja. Leurs graines sont beaucoup plus riches en protides, moins riches en glucides et de même teneur en lipides que le grain des céréales, leurs compositions par rapport à leurs teneurs en matière sèche est la suivante : Protides 22 à 25 % (soja, 32 à 34%), Glucides 48 à 54 % (soja, 30 à 31 %) et Lipides 1 à 4 % (soja, 16 à 18 %) (MOULE, 1972).

En Algérie, les légumineuses alimentaires (légumes secs), font partie du paysage agricole depuis des millénaires. Ces cultures sont utilisées en alternance avec les céréales car ils enrichissent le sol en azote. Les légumes secs constituent une importante source protéique susceptible de remplacer les protéines animales difficilement accessibles pour une large couche de la population. Ils sont aussi calorifiques et riches en glucides que le blé.

2- La fève

La fève est une légumineuse de la famille des fabacées. Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées. Cette espèce s'accommode à tous les sols (sauf ceux trop secs), de préférence argilo-calcaires, profonds et frais. C'est une plante méditerranéenne. (AKROUM, 2006). Elle est :

- Enrichissante, fixe l'azote grâce aux nodosités.
- A longévité moyenne de la graine : 5 à 6 ans.
- A germination : 6°C lui est nécessaire pour la levée.
- A dose de semis : 150 à 200 kg / ha
- A cycle végétatif : 120 jours. (ITCMI 2010).

3- Classification

D'après Dajoz(2000) in Mezani (2011), la fève se classe comme suit :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous- embranchement :	Angiospermes
Classe :	dicotéledone
Sous classe:	Dialypétales
Ordre :	Rosales
Famille :	Fabaceae
Genre :	<i>Vicia</i>
Espèce :	<i>Vicia faba L</i>

4- Description botanique

C'est une plante dont la taille peut dépasser 1 m, ces feuilles sont glabres et composées de deux ou trois paires de folioles opposées de forme ovale, son système racinaire est développé et descend profondément dans le sol. Les fleurs sont de couleur blanche ou violacée, sont disposées par grappes de 2 à 9 fleurs à l'aisselle des feuilles. Le fruit est une gousse verte en végétation, noirâtre à maturité et contenant quelques grains bruns noirâtres (AMRANI.2009) (Fig. 01)



Figure 01 : Morphologie de la fève. a: Fleurs et feuilles ; b: Gousse ; c: Graines

5- Les variétés de fèves :

Le nombre de variétés inscrites au catalogue officiel est limité pour la fève.(Tableau 01)

Tableau 01: Les variétés de fèves inscrites au catalogue officiel (Bennasseur,sd)

Fève	Caractéristiques
Agrex	Très précoce
Aguadulce	Tardives à grosses graines.
Aguadulce supersimonia	Extra hâtive à grains violets à très longue cosse
Karabiga	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.
Lobab	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985
Defes	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.

6- Origine géographique.

La fève *V.faba* L est originaire des régions méditerranéennes, du Moyen-Orient (MEZANI 2011), plus particulièrement de chine, pays qui fournit les deux tiers de la production mondiale (ANONYME, 2005), elle joue un rôle important dans l'alimentation des peuples africains, asiatiques, du Moyen – orient et de certaines populations européennes. (Fig. 02).

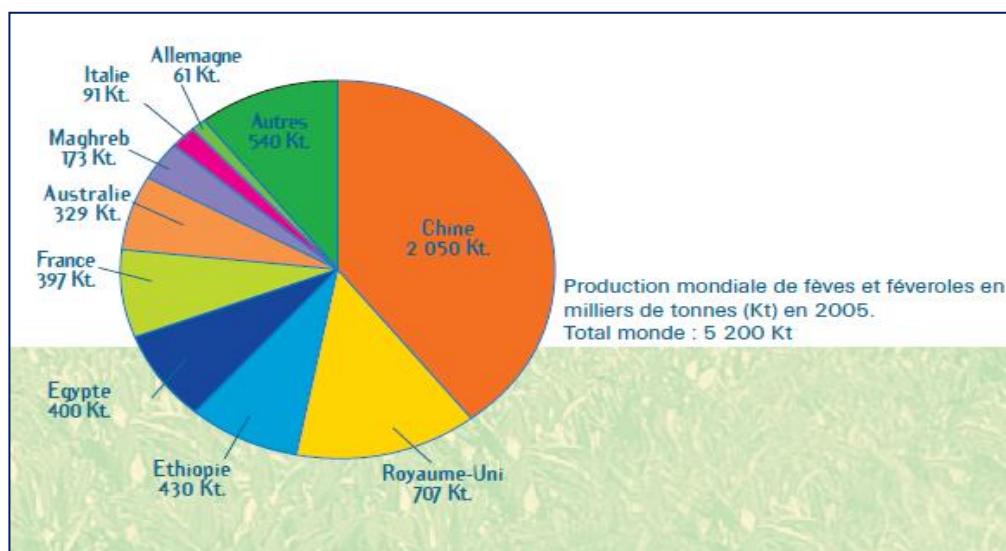


Figure 02 : production mondiale de la fève

Source : www.prolea.com

7- Constituants de la fève

La fève est essentiellement alimentaire, renfermant des acides aminés nécessaires et que l'on ne trouve pas dans les céréales. Elle contient aussi des vitamines, ex : A, B1, B2, C, E et divers minéraux dont le calcium, le cuivre, le fer et le magnésium. Toutes ces propriétés lui confèrent des fonctions diurétiques, énergétiques, expectorantes, nutritives, reconstituantes et toniques

8- Utilisation de la fève

La principale utilisation de la *Vicia faba L* est alimentaire : les fèves se consomment crues, dans ce cas les gousses sont cueillies à demi-maturité, ou se conservent à sec, et là les gousses se récoltent quand elles sont noires.

Si la cuisson est insuffisante ou la consommation est excessive, cette plante provoque des graves affections, en raison des substances toxiques qu'elle contient (AKROUM, 2006).

9- Importance économique de la fève

La fève constitue la plus importante culture parmi les légumineuses à grosse graine tant au niveau de la superficie que de la production (HAMDOUD; 2012).

Tableau 2 : Evolution des superficies, productions et rendements des fèves (2005/2010).

Années	Superficie (ha)	Production (q)	Rendement (q/ha)
2005	35047	268580	7.7
2006	33537	242986	7.2
2007	31253	279735	9.0
2008	30688	235210	7.7
2009	2278	364949	11.3
2010	34210	360252	10.7
Moyenne (2005-10)	32835.5	291952	8.93

Source : Statistiques Agricoles série B. 2005 à 2010.

10- Les maladies de la fève

La fève est attaquée par plusieurs maladies qui peuvent affecter sérieusement le rendement et la qualité. Les parcelles qui doivent être plantées doivent être soigneusement sélectionnées vu que la plupart des maladies sont commune chez autres cultures.

Les maladies les plus problématiques chez la fève sont mentionnées et caractérisées dans le tableau ci-dessous. (Bennasseur ;sd)

Tableau 3 : Les maladies les plus répandues chez la fève

Les maladies	Symptômes et dégâts
Anthraxnose	-La maladie se manifeste par des tâches sur les feuilles, les gousses, et les tiges.
Botrytis	-La maladie cause des tâches de couleur rouge brun sur les feuilles, tiges et gousses. (Fig03) -Ces tâches ou lésions peuvent causer une défoliation de la plante et même sa mort.
La rouille	-Cette maladie se manifeste par des taches brunes à rougeâtres sur les feuilles, causant un dessèchement et la chute des feuilles. (Fig03)



Figure 03 : la rouille(a)et botrytis(b) (ITCMI, 2010)

11- Les ravageurs de la fève

11-1- Les sitones

La fève est sensible aux sitones de la levée au stade 5-6 feuilles. Les risques sont plus élevés en hiver sec et doux et dans les rotations incluant des légumineuses. L'impact est cependant rarement préjudiciable. (JAMONNEAU et *al...*2002).

11-2- Les pucerons noirs

Le puceron noir vit en colonies compactes, à l'extrémité des plantes de fève. Il provoque l'enroulement, le dessèchement et la chute des feuilles (HAMADACHE, 2003). (Fig04)



Figure 04 : Puceron noir

11-3- Les bruches

Elles apparaissent pendant la formation des gousses. Elles n'induisent pas d'incidence directe sur le rendement mais sur les graines après la récolte (lors de la conservation, au stockage et lors de la commercialisation) (JAMONNEAU et *al...*2002).

1- Généralité :

Le puceron est petits insectes parasites des végétaux, se fixant sur leurs racines, tiges et feuilles et se nourrissant de leur sève (ENCARTA 2009).

Il est l'un des principaux ravageurs en culture ornementale sous abris. Il s'attaque à tous les types de plante et provoque rapidement des dégâts importants. Sa vitesse de reproduction et sa capacité de dispersion permettent au puceron d'envahir très rapidement une culture. Il est d'autant plus nuisible qu'il est susceptible de transmettre des virus (ANONYME, 2006).

2- Le puceron noir de la fève :

L'*Aphis fabae* est l'une des espèces les plus polyphages qui soient, il peut évoluer sur plus de 200 plantes. Il se trouve au printemps sur Fusain d'Europe (*Euonymus europeae*), sur la Boule de neige (*Viburnum opulus*) ou sur Seringat (*Philadelphus sp.*) et migre en mai vers ses autres plantes-hôtes. (MARC, 2004).

D'après LECLANT(1999) cette espèce se présente sous deux formes L'une aptère et l'autre ailée.

3- Description :

Forme aptère : 1,5 à 2,9 mm de long, noire à brun-noirâtre, présentant souvent des taches de cire blanchâtres sur l'abdomen. Les antennes sont plus courtes que le corps, les cornicules sont foncées, assez courtes. (Fig05)

Forme Ailé : 1,8 à 2,7 mm de long ; de couleur noire, avec des points de cire blanche bien visibles (LECLANT, 1996). (Fig06)



Figure 05 : La forme aptère d'*Aphis fabae* (MERADSI, 2009).



Figure 06: La forme Ailé d'*Aphis fabae* (MERADSI, 2009).

4- Classification :

D'après BALACHOWESKY et MESNIL(1934) ; GRASSE (1951) et REMAUDIERE (1997).

Embranchement :	Arthropodes
Sous embranchement :	Mandibulates
Classe :	Insectes
Sous classe :	Ptérygotes
Super ordre :	Hémiptéroïdes
Ordre :	Homoptera
Sous ordre :	Aphidinea
Super famille :	Aphidoïdae
Famille :	Aphididae
Sous famille :	Aphidinae
Genre :	<i>Aphis</i>
Espèce :	<i>Aphis fabae scopoli</i>

5- Plantes hôtes

Les hôtes primaires des pucerons noirs sont principalement des arbustes : Fusain d'Europe (*Euonymus europaeus*), la boule de neige (*Viburnum opulus*) et seringat (*Philadelphus coronarius*). Ces plantes hôtes secondaires peuvent appartenir aux Fabacées, Chénopodiacées, Astéracées, Brassicacées, Solanacées, ainsi que diverses cultures florales et ornementales. (HULLE *et al*, 1999).

6- Cycle de vie :

Dès le mois de mars, après l'éclosion des œufs d'hiver, plusieurs générations parthénogénétiques se développent sur l'hôte primaire. La proportion d'ailés augmente alors au sein des colonies. Les premiers ailés s'observent au cours du mois d'avril. Ces individus seront à l'origine de colonies en manchons parfois très denses sur les plantes hôtes secondaires sauvages et cultivées. Les ailés impliqués dans la reproduction sexuée apparaissent à l'automne et regagnent l'hôte primaire.

La fécondation et la ponte intervenant au courant du mois d'octobre. La reproduction sexuée n'est pas toujours obligatoire chez ce puceron. Dans les régions à climat doux, des populations peuvent de maintenir tout l'hiver sur des hôtes secondaires en continuant à se multiplier par parthénogenèse (BOHEC *et al*, 1981; HULLE *et al*, 1999) in (MERADSI, 2009)

7- Les dégâts :

Le puceron noir est un insecte piqueur et suceur, Il se nourrit de la sève des feuilles et des jeunes pousses, il peut ainsi occasionner d'importants dégâts, la croissance de la plante peut être freinée, la plante s'affaiblit. On peut également observer un avortement des fleurs, la chute des feuilles ou des dessèchements de pousses (LECLANT, 1996).

Le produit de la digestion du puceron noir est très riche en sucre (le miellat). Ce miellat provoque aussi des brûlures sur le feuillage et favorisent le développement de la fumagine .de plus, Le puceron noir peut transmettre plus de 30 virus pathogènes. (BLACKMAN et EASTOP, 2007).reduite

8- La lutte :**8-1- La lute préventive :**

D'après (LIETTE, 2005) avant de lutter contre n'importe quelle maladie ou ravageur dans une culture, il faut la préserver par les méthodes culturales à savoir :

- _ Eliminer les mauvaises herbes dans les champs.
- _ Inspecter soigneusement tout nouvel arrivage de plantes.
- _ Soyer très attentifs aux premiers signes dès leur présence.
- _ Les pièges collants ne servent qu'à détecter les pucerons ailés qui arrivent de l'extérieur ou qui naissent de foyers d'infestation déjà présents ; ce n'est donc pas un bon outil de dépistage pour les pucerons.

8-2- La lute biologique :

La définition de la lutte biologique dans son sens large concerne l'utilisation d'organisme vivant tel les ennemis naturels (parasitoïdes, prédateurs, pathogènes, antagonistes ou une population compétitrice) dans la bute de diminuer et de rendre moins dommageable une population de ravageur (BOIVIN, 2001).

1- Généralités sur les agrumes

Le terme « Agrumes » est utilisé au même titre que les « *Citrus* » et « Aurantiacées » dans la littérature. Ce terme désigne tous les arbres qui portent des fruits acides (BENOUFELLA-KITOUS, 2005).

Les agrumes, appelés aussi hespéridés, sont des arbres fruitiers cultivés sous nos climats tempérés, ils sont originaires d'Asie subtropicale et plus particulièrement d'une zone allant du nord-est de l'Inde jusqu'au nord de l'Indonésie, en passant par le Myanmar (Birmanie) et le sud de la Chine (CAMILLE *et al*, 2009).

Selon (LESLYE.2005) les genres (*Citrus*) comprennent environ 16 espèces d'arbres et arbustes sempervirens aux fleurs parfumées aux fruits segmentés, aromatiques et riches en vitamine C.

2- Importance économique des agrumes en Algérie

La culture des agrumes revêt une importance stratégique en sa qualité de source d'approvisionnement en fruits frais et des débouchés sur le marché international des produits agrumicoles. Sur le plan social, la culture emploie en moyenne 140 jours/ha/an, sans compter ceux générés par l'environnement de ce secteur (transformations, commercialisation). (BICHE. 2012).

Les vergers de *Citrus* couvrent en Algérie une superficie totale de 45.979 hectares soit 0,6% de la surface agricole et 11% de la surface arboricole. Ces vergers sont implantés dans les plaines les plus riches, réunissant les conditions de climat, de sol et d'infrastructure exigées par la culture. Au cours de la campagne 2001/2002, les superficies en production (en rapport) ont représenté 80,16% de la superficie complantée avec un rendement de 117,9 Q/Ha.

La répartition de la production agrumicole par espèce, consignée dans le Tableau 04, montre que se sont les oranges qui occupent la première place en Algérie, suivi par les clémentines, puis par les autres espèces. (BENOUFELLA-KITOUS, 2005)

Tableau 04: Répartition de la production agrumicole algérienne par espèce.

Variétés	Production en Q
Oranges (<i>C. sinensis</i>)	3 270 830
Clémentines (<i>C. clementina</i>)	907 350
Citrons (<i>C. limon</i>)	316 440
Mandarines (<i>C. reticulata</i>)	193 520

3- Citrons (*C. limon*) :

3-1- Systématique:

Selon PADRINI et LUCHERONI (1996), la classification de citron est la suivante :

Embranchement : Spermaphytes
 Classe : Eudicotylédones
 Ordre : Sapindales
 Famille : Rutaceae
 Genre : *Citrus*
 Espèce : *Citrus limon*



Figure 07: Fruit du citron

3-2-Habitat et culture

Le citronnier serait originaire d'Inde Cultive en Europe, il est aujourd'hui répandu dans les régions au climat méditerranéen et subtropical du monde entier. On le multiplie par semis au printemps, sur un sol bien draine et très expose au soleil les fruits se récoltent en hiver, quand leur teneur en vitamine C est maximale (LAROUSSE ; 2001).

3-3-Description de fruit

Originaire de Californie 1858, arbre de 3 à 5m à feuilles persistantes, odorantes, lancéolées, à floraison remontante permettant des fruits de moyen calibre. Fleurs blanches nombreuses, rosées et parfumées, à 5 pétales charnus et 10 étamines. Ecorce jaune vif au printemps et en été (LOUSSERT, 1989 ; POLESE, 2005).

Ces fruits utilisés comme antiseptiques, cicatrisants, stomachique, carminatif, et diurétique, Les feuilles sédatives en infusion (BARDEAU, 1976).

4-Pamplemousse (*Citrus paradisi*)

4-1 Systématique :

Selon LOUSSERT (1989), la classification de pamplemousse est la suivante :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Dicotylédone
Ordre :	Rutales
Famille :	Rutacées
Genre :	<i>Citrus</i>
Espèce :	<i>Citrus paradisi</i> (Gupta et al, 2011)



Fig08 : fruit de pamplemousse

4-2-Historique

Découvert en Jamaïque vers 1800, le pamplemousse provient d'un croisement ancien entre le citron et le vrai *citrus grandis* d'Asie. C'est la Compagnie néerlandaise des Indes Occidentales qui embarqua "l'original" à bord de ses navires en direction de ses comptoirs dans les Antilles à la fin du XVIIe siècle. À cette époque, le fruit né de ce croisement était

absolument immangeable. C'était une curiosité botanique dont on présumait par contre de grandes propriétés médicinales (Raynaud.2008).

4-3- Description de fruit :

Sphérique comme un ballon avec les extrémités légèrement aplaties, généralement deux fois plus gros qu'une orange, bien jaune, le pamplemousse est de belle taille. Sa chair, croquante et juteuse, est divisée en 12 ou 13 quartiers et contient peu de pépins. Il a une saveur acidulée, légèrement astringente et plus ou moins sucrée (RAYNAUD. 2008).

Les pamplemousses sont des aliments à haute teneur en vitamine C qui constituent une bonne source d'inositol, un membre du complexe de vitamines B. C'est un fruit consommé au petit déjeuner, en salade ou sous forme de jus de fruit. (ENCARTA, 2009).

1-Huiles essentielles

1-1-Définition

Selon (FANNY, 2008). Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophage. Ces extraits contiennent en moyennes 20 à 60 composés qui sont pour plupart des molécules peu complexes (mono terpènes, sesquiterpènes,...etc.). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits des plantes.

1-2- Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement répandus dans les plantes avec des familles à haute teneur en matières odorantes comme les conifères, les myrtacées, les ombellifères, les labiacées, les rutacées, les géraniacées ...etc.

Ces huiles peuvent être stockées dans divers organes ; fleurs (rose, jasmin, origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorce (cassia, cannellier), bois (bois de rose, santal), racine (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane, citron) ou grains (carvi) (BRUNETON, 1993).

1-3- Le rôle des Huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Ces derniers ne sont pas essentiels pour la croissance des plantes (CROTEAU *et al*, 2000). Dernièrement, des études ont montré que dans les plantes, les huiles essentielles ont pour fonction d'attirer les insectes pollinisateurs ou repousser les insectes hostiles. Un certain nombre d'entre elles ont également des propriétés antiseptiques, insecticides, fongicides et bactéricides (CARSON et HAMMER, 2011).

1-4- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

1-4-1-Par pression à froid

Ce procédé s'applique aux huiles citronnées et agrumes (bergamote, citron, mandarine, orange...). Dans ce cas, les écorces ou zestes, sont tout simplement pressés par une machine de pression pour en recueillir les huiles (FRANCHOMME *et al*,1990).

1-4-2- Hydro distillation

C'est le procédé le plus ancien. La plante aromatique (entière ou broyée) placée dans un alambic immergée dans l'eau, il est préférable d'utiliser une eau sans chlore contenant un peu ou pas de calcium (eau de source, eau distillée). Porté à l'état vapeur en passant à travers le matériel végétal entraîne l'huile essentielle, elle est refroidie et condensée dans un serpentin.

L'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité dans une vase florentin. L'eau obtenue est une eau florale ou hydrolat aromatique. (RAYNAUD,2006)

1-4-3- L'expression au solvant volatil

Certaines H E ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être utilisé, C'est pourquoi on utilise les solvants. C'est une méthode très peu employée, elle représente 3% des cas. On met à macérer les fleurs ou les sommités fleuries dans du solvant, le plus souvent on utilise le benzène. Puis, on centrifuge pour récupérer l'HE. (SALLE, 1991).

1-4-4- Par enfleurage

Ce processus d'extraction, très sophistiqué, plus trop utilisé, est réservé aux huiles florales de très grande qualité. Les pétales fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse sur des châssis de verre et remplacés toutes les 24 heures, essentielles saturant progressivement la graisse.

Le composé obtenu, appelé « pommade », est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation, produit l'huile parfumée (DURAFFOURD *et al*, 1998).

1-5- Identification des huiles essentielles

Il existe de différentes méthodes pour identifier les composants d'une huile essentielle, parmi celle-ci la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G), chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), la spectrométrie de masse (M.S) et le couplage des deux technique (G.S-M.S)

1-6- Composition chimique des huiles essentielles

Les composés chimiques des huiles essentielles appartiennent à deux familles chimiques bien distinctes à savoir, les terpénoïdes et les composés aromatique dérivés du phénylpropane (BRUNETON, 1993).

1-7-Propriétés physico-chimique

De nous jour, les propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, d'aster...) sont exigées pour leurs évaluation commerciales.

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolore ou faiblement colorée (jaune pâle). Cependant, on rencontre quelques-unes d'entre elles qui sont respectivement colorées en rouge, vert et bleu.

La plupart d'entre elles sont plus légères que l'eau. Il existe toutefois des huiles plus lourdes comme par exemple les essences de cannelle et girofle.

Elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques usuels et les huiles grasses. Elles sont liposolubles et très peu soluble dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leur odeur. On parle alors d'eau aromatique. (BRUNETON ,1987)

1-8- Domaine d'application des huiles essentielles

1-8-1-En parfumerie :

C'est le débouché principal des huiles essentielles. L'industrie cosmétique et le secteur des produits hygiènes sont également des consommateurs, mêmes si le goût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques.

1-8-2-En pharmacie :

Les huiles essentielles présentent des propriétés antiseptiques, digestives ou antispasmodiques et même sédatives. Il y en a aussi qui agissent sur le système nerveux central comme l'essence d'anis (calmante) et beaucoup d'entre elles favorisent la sécrétion du suc digestif (salive, liquide stomacal et intestinale et bile) et stimulent par conséquent l'appétit (HANS ,1977)

1-8-3-En industrie alimentaire :

Plusieurs segments alimentaires utilisent, à degrés divers, les huiles essentielles qui leur offrent un formidable potentiel de leurs notes aromatique dans un registre infiniment varié.

On les retrouve presque dans tous les secteurs alimentaire, boissons non alcoolisé, confiserie, produits laitiers, soupes, sauces, produits boulangerie, produit carnés,...etc. (RICHARD, 1992).

2- L'hydrolat

2-1- définition

L'hydrolat, qui est le condensé de la vapeur d'eau porteuse d'huile essentielle, a capté, en passant à travers les végétaux, les éléments hydrosolubles, tout en conservant en suspension une très petite partie de l'huile essentielle. (.....)

Les hydrolats ont des fonctions analogues à celles des infusions et des décoctions ; ils sont goûteux et concentrés. Cet hydrolat contient donc en petite quantité des composants plus ou moins identiques à ceux de l'huile essentielle (jusqu'à 5% de composés aromatiques selon la plante) plus des composants hydrosolubles. (BOSSON et DIETZ 2005)

2-2- propriétés des hydrolats

Elles sont assez proches de celles des huiles essentielles, avec deux différences de taille cependant :

- Les hydrolats, bien moins concentrés, sont bien plus faciles à utiliser en Automédication, aucun risque de se faire mal, c'est idéal pour les enfants ou les personnes fragiles.

- Les hydrolats s'utilisent en cure, ils n'ont pas d'action puissante par exemple, ils ne sont pas anti-infectieux, chaque hydrolat son rayon d'action. (Anne Dufour2007)

2-3- Utilisation

Selon les hydrolats ils peuvent t'être utilisés pour des états spécifiques (insomnies, peurs, toux, rhume, colère, douleurs diffuses, migraines, chagrin d'amour, acidité gastrique, angoisse de séparation, bavardage mental) (BOSSON et DIETZ, 2005).

1- Objectif

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'efficacité insecticide des huiles essentielles d'écorces de pamplemousse (*Citrus paradisi*) et de citron (*Citrus limon*) et leurs hydrolats à l'égard du puceron noir (*Aphis fabae* L) ravageur de la fève (*Vicia faba*).

2- Matériel

2-1- Matériel végétal

-Les plantes étudiées sont : le citron (*Citrus limon*) et le pamplemousse (*Citrus paradisi*). (fig09)

-Les fruits de citron ont été récoltés durant les mois de mars 2014 au niveau de la région d'Ouled Slama, wilaya de Blida.

-Les fruits de pamplemousse ont été achetés au niveau de Bougera.

-Les écorces des deux fruits ont été nettoyées et séchées à l'ombre, à l'aire libre et à température ambiante. La durée de séchage a été de 12 à 15 jours.

-Les écorces ont été découpées en petits morceaux. (fig09)

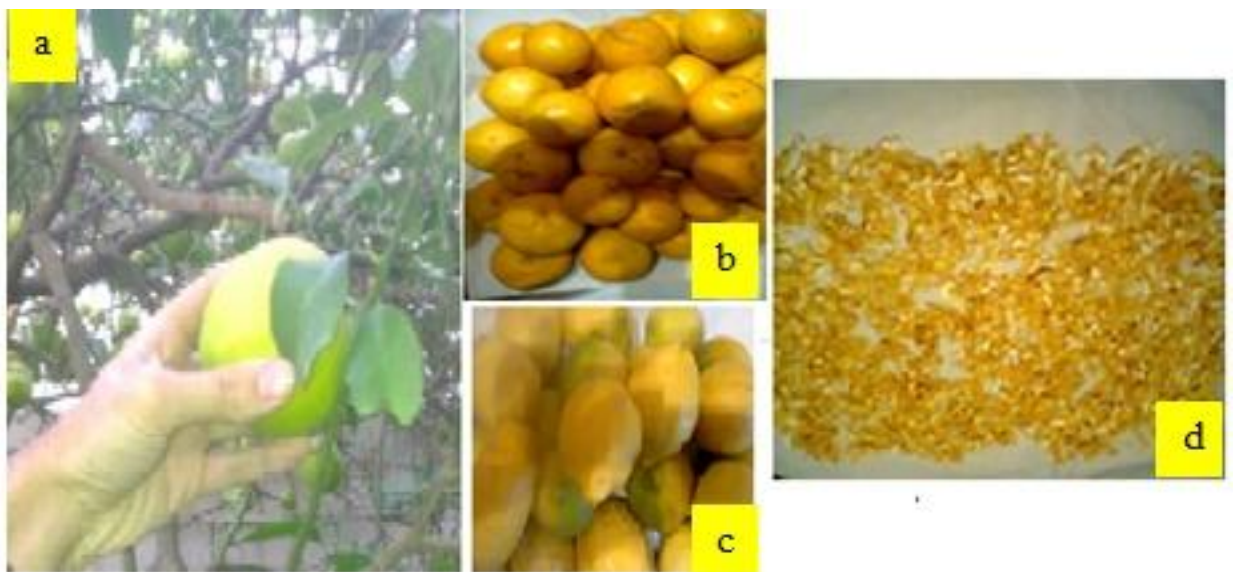


Figure 09: fruits de pamplemousse (a, b), fruits de citron (c) et les écorces (d)

2-2-Matériel animal :

- Le ravageur étudié est le puceron noir (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*). (Fig10)

- La population des pucerons noirs utilisée a été récupérée de la parcelle située au département de biotechnologies, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Blida. (Fig10)

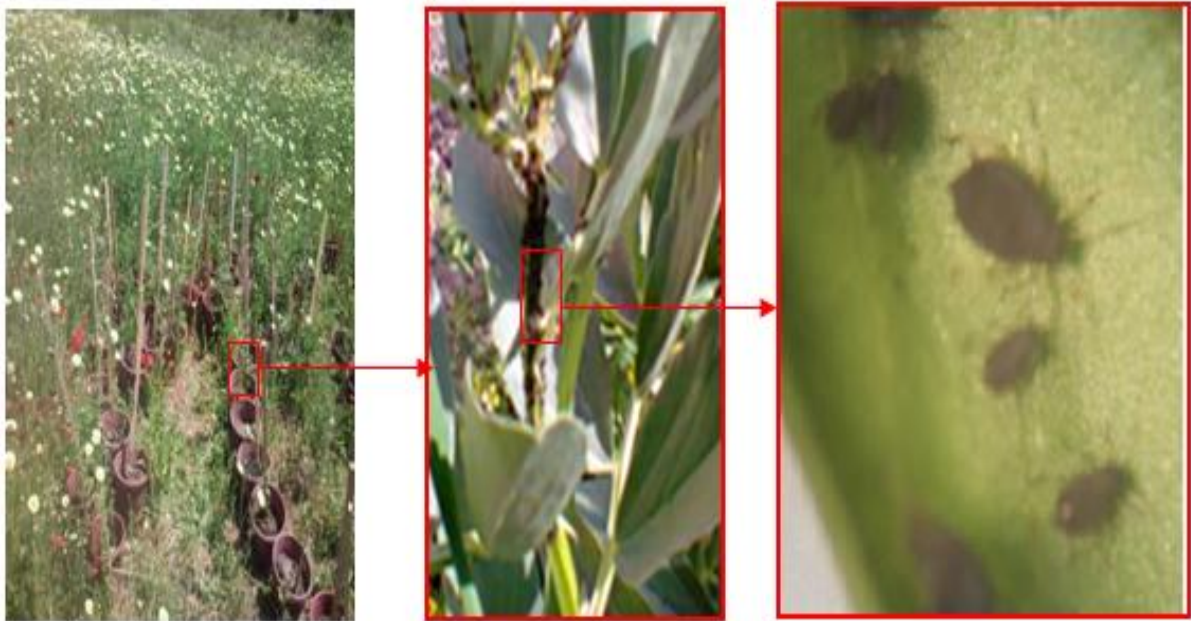


Figure 10 : Les pucerons noirs de la fève

2-3-Matériel de laboratoire

Les appareils, les réactifs et la verrerie utilisés pendant notre expérimentation sont représentés dans l'annexe 1.

3- Méthodes

3-1- Détermination de la teneur en eau

Pour déterminer la teneur en eau, nous avons effectué une dessiccation de la matière fraîche, qui nous a permis de déterminer la matière sèche par la pesée, après passage à l'étuve à 50°C pendant quelques jours jusqu'à la fixation du poids d'écorces séchées.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$MS(\%) = (PS / PF) * 100$$

Où :

- MS(%) : pourcentage de matière sèche ;
- PS : poids sec (g) ;
- PF : poids frais (g).

La teneur de l'eau est exprimée par la formule suivante (.....)

$$\text{La teneur en eau}\% = 100 - Ms\%$$

3-2- L'extraction des huiles essentielles et des hydrolats par hydro distillation

L'extraction des huiles essentielles du pamplemousse et du citron et leurs hydrolats ont été faite au niveau de laboratoire de recherche de plante médicinale et aromatique, Département de biotechnologie, université Saad Dahleb Blida.

3-2-1- Principe:

L'hydro distillation par un appareil de type *Clevenger* (Figure11), consiste à laisser baigner directement le végétal dans une enceinte (un ballon) d'eau, à qui les vapeurs, après chauffage à ébullition, entraînent au fur et à mesure des particules légères qui se condensent sur les parois plus froides (réfrigérant) du serpentín, ainsi ces essences (huile essentielle) seront séparés par différence de densité, et seront récupérés dans des ependorfs (BRUNETON, 1999).



Figure11 : Hydro distillation.

3-2-2- Mode opératoire

- Dans ce travail, l'extraction a été réalisée sur 40g d'écorce de pamplemousse ou d'écorce de citron dans 300ml d'eau ; qu'on a placé dans un ballon de 500ml, et que nous avons laissé bouillir durant 3 heures.

- A la fin, nous avons obtenu deux phases (hydrolat et l'huile essentielle) qui se sépare par une différence de densité.

-l'huile essentielle est récupérée dans des Ependorfs et l'hydrolat dans des flacons, le tous est couvert avec papier aluminium et conservées au réfrigérateur à 4°C.

3-2-3- Evaluation du rendement en huiles essentielles

Après avoir noté la quantité des huiles essentielles lues dans les graduations millimétriques de l'appareille d'hydro distillation utilisé, le rendement en huiles essentielles a été calculé par la formule suivante :

$$R = (V/M) \times 100$$

Où :

R : rendement d'huile essentielle en ml par apport à 100g de matière sèche ;

V : Volume d'huile essentielle en ml ;

M : poids de la matière végétal exprimé par apport à la matière sèche.

3-3- Réalisation de coupes histologique sur les écorces d'agrumes

Afin de connaître la structure histologique responsable de la sécrétion des huiles essentielles, des coupes transversales des péricarpes des fruits, ont été colorées selon la technique de double coloration (Bleu de méthyle et Rouge Congo) .

Cette technique comprend les étapes suivantes (fig12)

- réaliser des coupes très fines à l'aide d'une lame.
- mettre les coupes dans de l'eau de javel (pour vider les cellules) durant 10 à 15 mn puis les rincer environ 10 à 20 mn pour éliminer le surplus d'eau de javel .
- les remettre dans de l'acide acétique (pour rétablir le pH et assurer la fixation du colorant sur la paroi) durant 1 mn avant de les rincer pendant 10mn pour éliminer le surplus d'acide acétique .
- les laisser dans du bleu de méthyle (pour la coloration des parois lignifiées et/ou subérifiées). pendant 20 mn puis les rincer pendant 10mn pour éliminer l'excès de colorant.
- les mettre dans du rouge Congo (pour la coloration des parois pectocellulosiques) pour 5 mn avant de les rincer une dernière fois.
- enfin les disposer entre la lame et la lamelle pour les observer au microscope photonique.

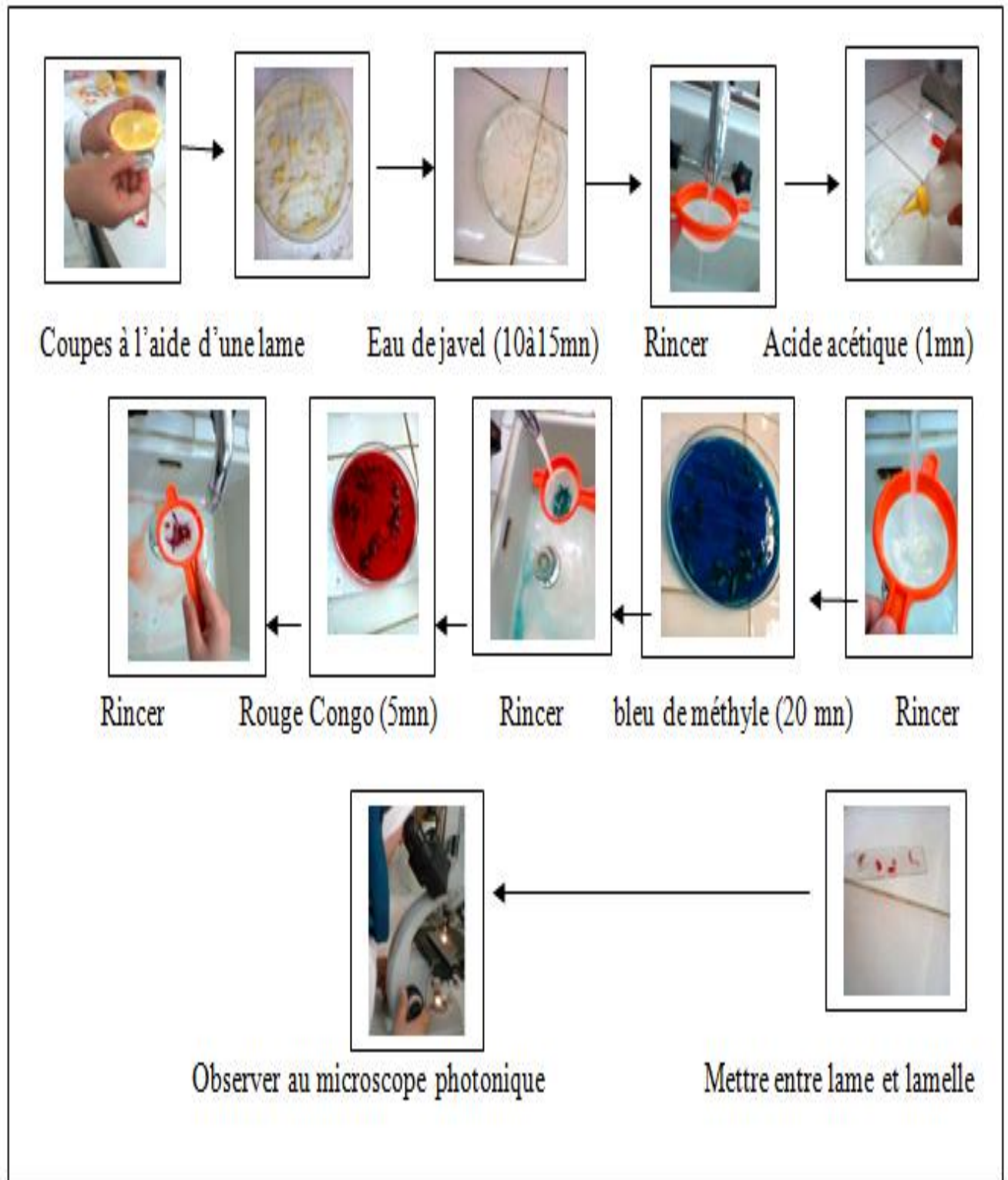


Figure 12 : Réalisation de coupes histologique

3-4 Caractérisation chimique des huiles essentielles et des les hydrolats

Les analyses chimiques ont été faites au niveau de laboratoire de recherche de plante médicinale et aromatique et au niveau de laboratoire de chimie à la Département de biotechnologie de l'université de Saad dahleb Blida.

3-4-1- Propriétés organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de l'huile essentielle ont été notées.

3-4-2- Propriétés chimiques

3-4-2-1- Indice d'acidité (NF EN ISO 660 ,1999)

Principe

La méthode titrimétrie est la mise en place d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis un titrage des acides libres à l'aide d'une solution éthanolique hydroxyde de potassium et en présence d'indicateur.

Mode opératoire

- Préparer dans un erlenmayer une solution d'oxyde diéthylique éthanol à 95% et prendre 2ml.
- Ajouter la solution préparée à la prise d'essai 0.2g.
- Ajouter quelques gouttes de phénolphtaleine (qui est un indicateur coloré).
- Titrer le KOH éthanolique (0,1N) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante (10 secondes) et noter la quantité de KOH utilisée indiquée sur la burette (V).

Expression des résultats

Indice d'acide

$$IA = \frac{56,1 * V * C}{m}$$

Où :

V : est le volume, en millilitre, de la solution titrée de KOH utilisée ;

m : est la masse, en grammes, de la prise essai ;

C : est la concentration exacte, en mole par litre, de la solution titrée de KOH utilisée ;

56,1 : est la masse molaire en gramme par mole de KOH.

3-4-2-2-Détermination de l'indice de réfraction (IR)

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence de réfraction d'un rayon lumineux, de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle (Afnor, 2000).

Mode opératoire et calcul :

Régler le réfractomètre en mesurant l'IR de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à une température de 20°C. Après ouverture du prisme secondaire, nous déposons 2 gouttes d'HE ou hydrolat sur la partie centrale du prisme principal. Enfin, nous fermons délicatement le prisme secondaire.

La lecture de la mesure s'effectue à une température stable, le calcul de l'IR, à la température de référence T, est donné par l'équation suivante :

$$\text{IR} = n_t + 0,0004(T - 20)$$

n_t : valeur de lecteur obtenue à la température t .

T : température en C° de l'échantillon.

3-4-2-3-Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR)

Principe

La spectroscopie infrarouge permet d'obtenir des informations sur les fonctions chimiques dans les molécules et permet ainsi de différencier les isomères.

Mode opératoire

* placer une goutte d'huile essentielle du citron ou du pamplemousse sur la pastille de KBr.

* puis placer la pastille dans le module conçu à cet effet.

* Mettre la pastille dans le spectre infrarouge.

3-5- Test d'efficacité des huiles essentielles et leurs hydrolats sur le puceron noir de la fève :

3-5-1-Préparation des doses :

3-5-1-1 Huiles essentielles

A partir de l'huile essentielle obtenue, nous choisissons trois concentrations à tester après dilution dans le tween 80 (dilué à 1%).

Nous utilisons le tween 80 comme témoin à cause de son activité insecticide nul et comme diluant pour former des microémulsions, donc l'homogénéisation de la solution de l'huile essentielle.

Les doses préparées sont les suivantes :

- Dose 1= D1 : 3% = 0,3ml HE+ 9,7ml d'eau distillée additionnée au tween.
- Dose 2= D2 : 2% =0, 2ml HE+ 9,8ml d'eau distillée additionnée au tween.
- Dose 3= D3 : 1% = 0,1ml HE + 9,9 d'eau distillée additionnée au tween.
- Témoin = Tween 80(dilué1%).

Les solutions obtenues ont été ensuite préservées aseptiquement dans des flacons protégés par du papier aluminium contre la lumière et conservés au réfrigérateur. Une agitation avant chaque traitement est effectué pour permettre l'homogénéisation de la solution.

3-5-1-2 -Hydrolat

A partir de l'hydrolat obtenu, nous choisissons trois concentrations à tester après dilution dans l'eau distillée.

Les doses préparées sont les suivantes :

- Dose 1= D1 : 100% = 10ml hydrolat
- Dose 2= D2 : 75% = 7,5ml hydrolat+ 2,5ml d'eau distillée
- Dose 3= D3 : 50% = 5 ml hydrolat + 5 ml d'eau distillée
- Témoin = l'eau distillée

Les solutions de l'hydrolat obtenues ont été aussi préservées dans des flacons protégés par du papier aluminium puis sont conservés au réfrigérateur ; et ils ont été agités avant chaque traitement pour permettre l'homogénéisation de la solution.

3-5-2-Application des traitements

A fin d'évaluer l'effet insecticide des différents traitements, nous réalisons des tests in-vitro, le mode d'action est le mode par contact et inhalation.

3-5-2-1-Par contact

Des individus de puceron noir avec feuilles ou tiges de la fève sont placés dans des boîtes de pétri (10cm de diamètre, de 2cm de hauteur et le couvercle est troué de façon à obtenir des petits trous) à raison d'environ 10 à12 individus par boîte, ces pucerons sont pulvérisés par les différentes doses des HEs et des hydrolats. Pour chaque dose, 3 répétitions sont effectués. Après traitement, le comptage des pucerons noirs morts est effectué après 24h, 48h et 72h. (fig.13)



Figure 13 : Test par contact

3-5-2-2-Par inhalation

Une dose d'huile essentielle ou de l'hydrolat est déposée sur des disques de papier filtre, placée dans une boîte de pétri. Ensuite nous plaçons les individus de puceron noir et enfin nous couvrons avec le couvercle troué. Même application pour toutes les doses avec trois répétitions pour chaque dose.

Après traitement, le comptage des pucerons morts est effectué après 24h, 48h, 72h. (fig.14)



Figure 14: Test par inhalation

1- Teneur en eau :

L'écorce de pamplemousse renferme un pourcentage de 77% d'eau ; et l'écorce de citron renferme un pourcentage de 84% d'eau. Ce qui confirme les résultats de Paris et Moyes (1965) qui ont mentionné que les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment environ 60 à 80% d'eau. (Fig.15)

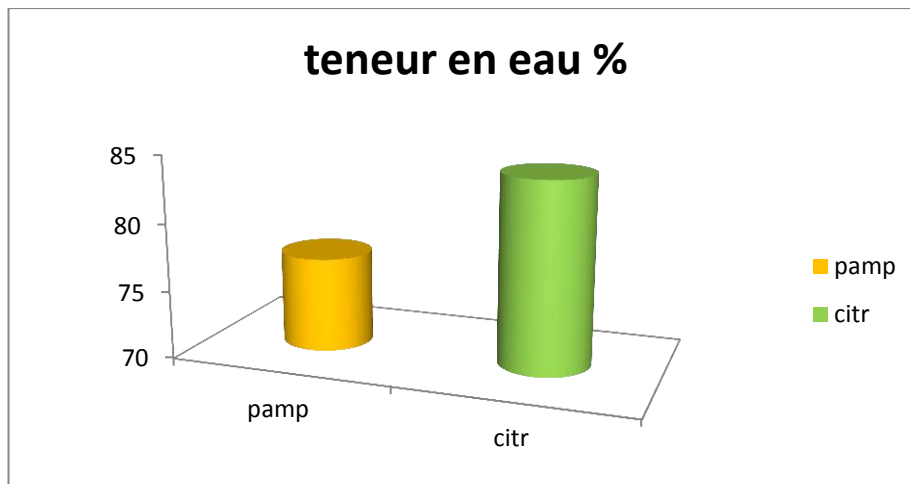


Figure 15: La teneur en eau des écorces du *C. limon* et du *C.paradisi*

2- Détermination du rendement des huiles essentielles du *C. limon* et du *C. Paradisi*

Les rendements des huiles essentielles du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* obtenu par hydro distillation sur 40g d'écorce sèche pendant 3heurs. Les résultats présentés dans la figure 16, et le tableau 05

Tableau05: Rendement des huiles essentielles du citron et du pamplemousse

Huiles essentielles	<i>Citrus limon</i>	<i>Citrus paradisi</i>
Rendement% (l/g)	2,3%	1,55%

Les résultats représentés sur la figure ci-dessous montrent que le rendement de l'huile essentielle du *citrus limon* étant de 2,30% est plus élevé que le rendement du *Citrus paradisi* qui est de 1,55%.

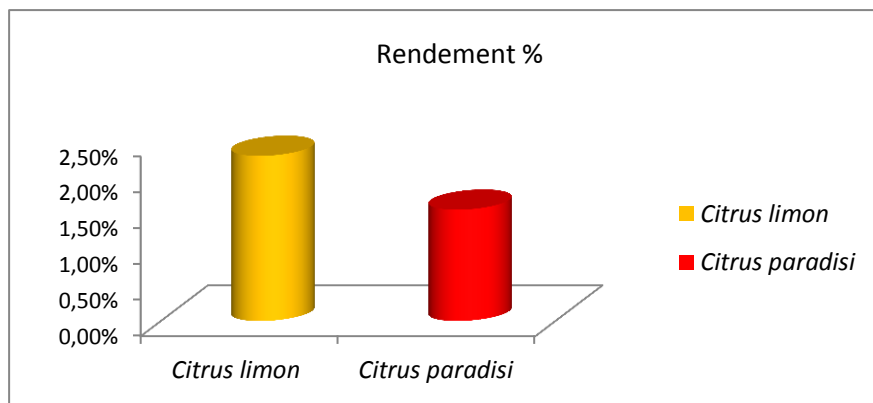


Figure 16: Rendement en huiles essentielles du *C. limon* et du *C. paradisi*

D'après REGA et *al* en 2003, les rendements en huiles essentielles chez les citrus diffèrent selon l'espèce et, ils ont signalé des rendements de 1% à 3%. Cette différence pourrait être expliquée selon (KELEN et TEPE, 2008 ; et VEKIARI et *al*, 2002) par le choix de la période de récolte, car elle est primordiale en termes de rendement et de qualité des huiles essentielles, le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée etc.

3- Etude histologique des écorces d'agrumes

3-1-Anatomique du péricarpe de pamplemousse

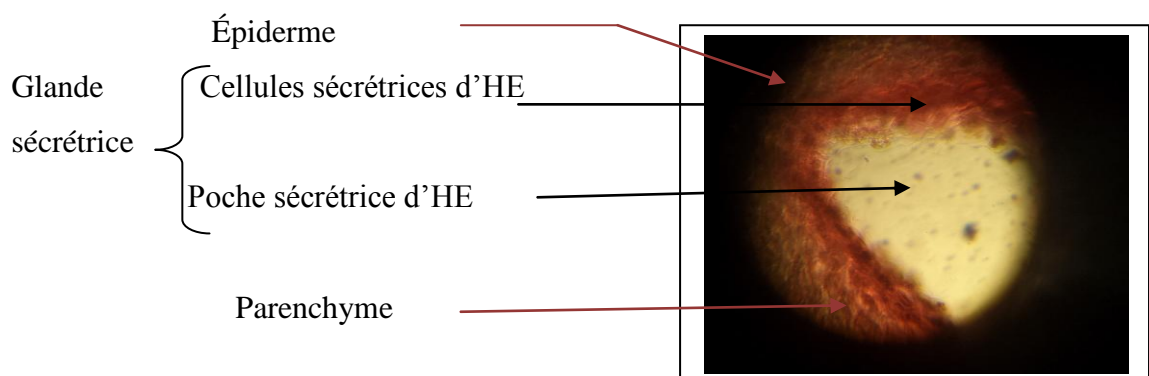


Figure 17 : Coupe transversale du péricarpe de pamplemousse observé au microscope optique G 100x

La coupe transversale du péricarpe du *citrus paradisi* (Fig.17) montre de l'extérieur vers l'intérieur ce qui suit :

- Epiderme
- Parenchyme
- Glande sécrétrice : poche sécrétrice entourée d'assises de cellules aussi dites sécrétrices.

3-2- Anatomique du péricarpe de citron

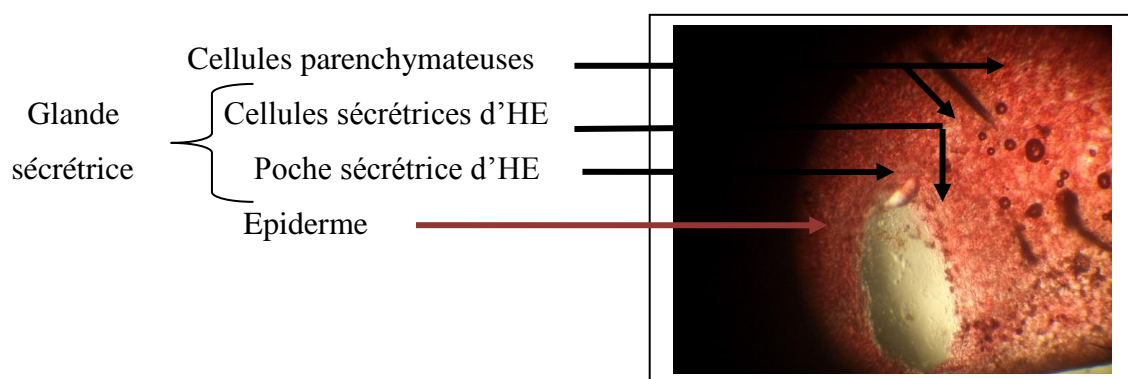


Figure18 : Coupe transversale du péricarpe de citron observé au microscope optique G 100x

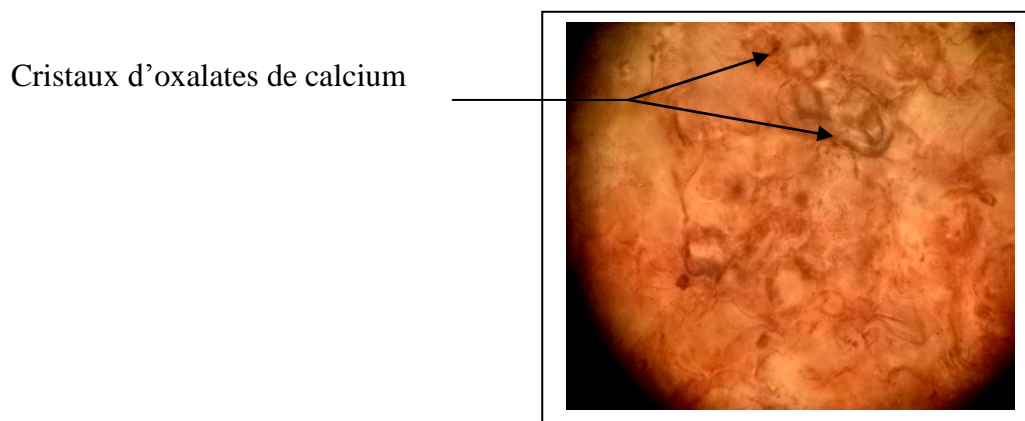


Figure19 : Cristaux d'oxalates de calcium observés au microscope optique à G100X.

La coupe transversale du péricarpe du *Citrus limon* (Fig.18) montre une structure similaire à celle du *Citrus Paradisi*, avec des cristaux d'oxalates de calcium en plus. (Fig.19).

4- Les caractéristiques organoleptiques

La caractérisation organoleptique des huiles essentielles du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* obtenues par hydro distillation est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 06: Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du citron et du pamplemousse

Espèces	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Citrus limon</i>	Liquide mobile	Incolore	Fort citronnée
<i>Citrus paradisi</i>	Liquide mobile	Jaune pâle	Agréable

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolore ou faiblement colorée (jaune pâle) (BRUNETON ,1987). Nos huiles ont une couleur jaune pâle pour celle du pamplemousse et incolore pour celle de citronnier.

5- Détermination de l'indice d'acidité :

L'indice d'acidité des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 07: L'indice d'acidité des huiles essentielles et des hydrolats des deux agrumes.

Extrait	L'indice d'acidité
HE de pamplemousse	3,11
HE de citron	3,11
Hydrolat de pamplemousse	2,80
Hydrolat de citron	2,80

Les résultats représentés sur tableau précédent montrent que l'indice d'acidité d'HE du *Citrus limon* est le même que celui du *Citrus paradisi*, de même pour l'indice d'acidité des hydrolats des deux citrus.

6- Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction a été calculé à 24°C à l'aide d'un réfractomètre. Ils sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 08 : L'indice de réfraction des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi*

Extrait	Indice de réfraction
HE de pamplemousse	1,52
HE de citron	1,48
Hydrolat de pamplemousse	1,335
Hydrolat de citron	1,336

La valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle du citron (1,48) correspond à l'huile essentielle de l'orange selon normes d'AFNOR (1,4700- 1,4780). Elle est proche de la valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle du *Citrus aurantium* (1,46) qui a été rapportée par Drareni, (2013).

La valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle du pamplemousse est plus élevée que celle du citron. Par contre, les valeurs de l'indice de réfraction des hydrolats du citron (1,336) et du pamplemousse (1,335) correspondent à l'indice de réfraction du témoin (eau distillé (1,333)).

7- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR)

Le spectre de l'huile essentielle du citron nous donne 3 pics de très forte intensité à 2900cm⁻¹ (groupement Aldéhydes C-H) , 2260cm⁻¹ (groupement Nitriles C≡N) et 1400cm⁻¹ (groupement Amine C₁₆-N) par rapport a l'huile essentielle du pamplemousse qui sont de très faible intensité.¹ (Annexe2).

¹ - <http://www.sciences-edu.net/phisque/specamp/specamp.htm>

8- Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats

Dans cette partie nous allons présenter les résultats relatifs à l'effet bio insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* sur le puceron noir *Aphis fabae* de la fève *Vicia faba*.

8-1- Evaluation de l'effet des huiles essentielles du *Citrus paradisi* et du *citrus limon* par inhalation et par contact

L'évaluation du taux de mortalité des pucerons noirs traitées par les huiles essentielles de pamplemousse et de citron par mode d'inhalation et par contact, est présentée dans les figures ci-dessous.(Annexe)

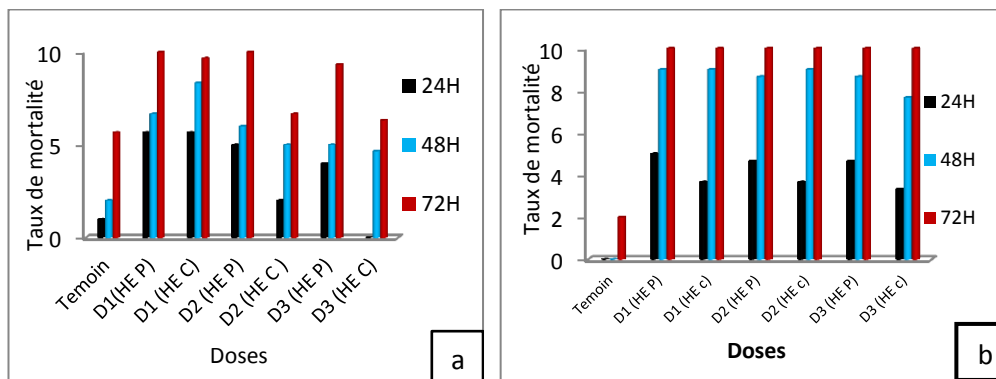


Figure 20: Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)

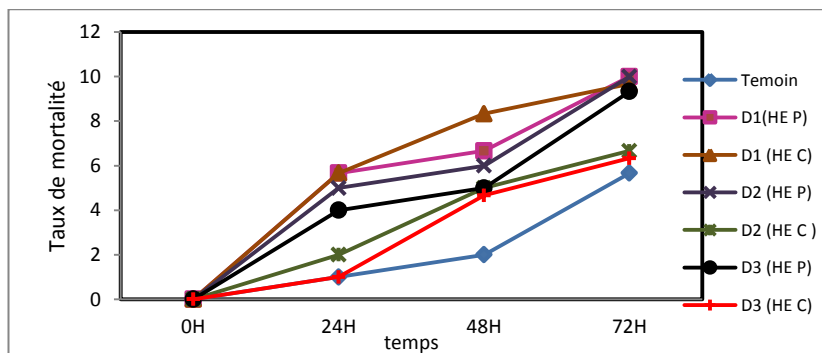


Figure 21: Taux temporelle de mortalité par inhalation

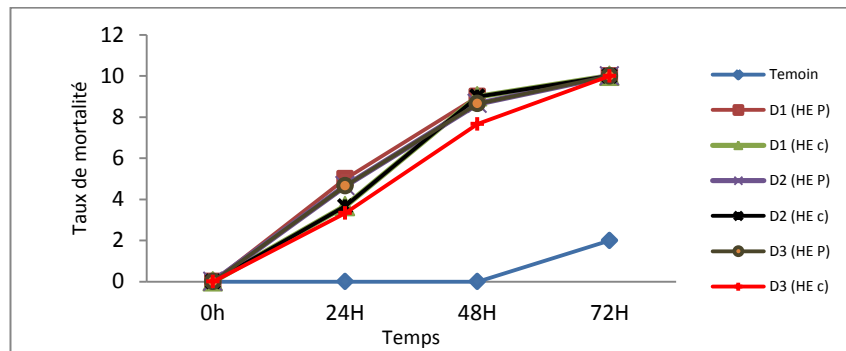


Figure 22 : Taux de mortalité par contact en fonction temps

D'après les figures 20, nous avons remarqué une activité insecticide décroissante selon les doses, de D1 (plus forte) à D3 (plus faible) des huiles essentielles des *C.paradisi* et *C.limon* sur le puceron noir *Aphis fabae*.

D'après les figure (21et 22), nous avons noté une mortalité des pucerons dès les premières 24h pour les deux huiles essentielles des *C.paradisi* et *C.limon* (par inhalation et par contact), cette efficacité augmente avec le temps (après 48h et après 72h).

Après le traitement par contact, nous avons remarqués qu'après 72h le taux de mortalités des pucerons est de 100% pour les trois doses de chaque huile essentielle.

En parallèle, nous avons observés l'apparition d'une faible mortalité des pucerons après 24h dans le témoin, cette mortalité est probablement due à un stress abiotique (climatique).

Les résultats représentés sur les figures ci-dessus montrent que, par mode d'inhalation, l'huile essentielle du *Citrus paradisi* est plus efficace que celle du *Citrus limon* ; et que le traitement par contact est plus efficace que par inhalation pour les huiles des deux *Citrus*.

8-2 Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* par inhalation et par contact

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance pour déterminer l'action de l'huiles essentielles du citron et du pamplemousse sur les pucerons noirs de la fève selon plusieurs facteurs (Mode, Extrait, Dose, Temps). Pour cela nous avons utilisé le modèle linéaire global (GLM), les résultats seront considérés significatives quant $p < 5\%$.

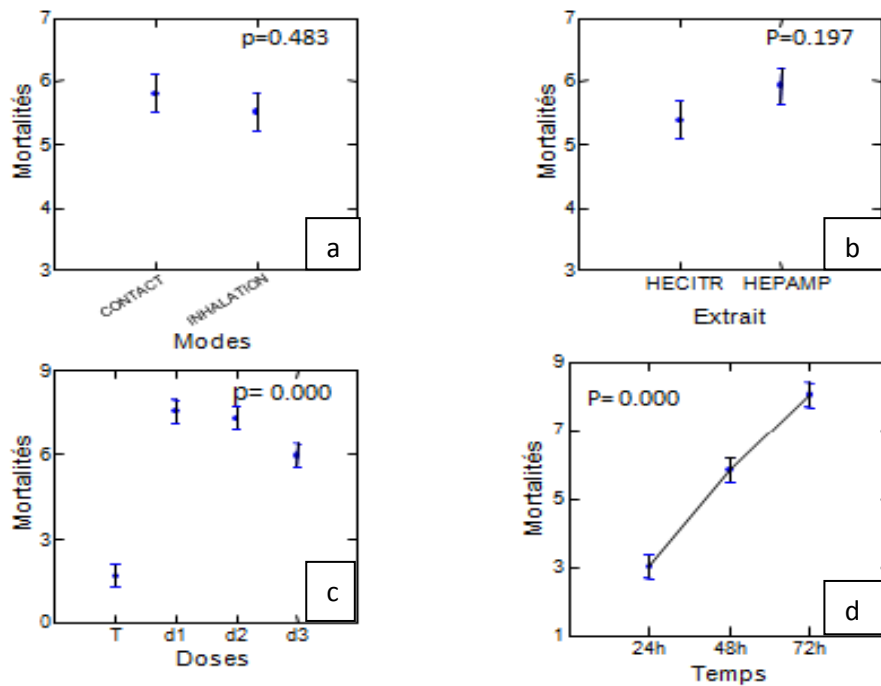


Figure 23: Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps).

Selon figure 23(a, b) l'huile essentielle de pamplemousse plus efficace avec traitement par contact. Et d'après figure 23(c), nous avons remarqué que la dose d1 semble être le meilleur traitement.

L'analyse de la variance (test GLM) sur la variation du taux de mortalité, révèle une différence non significative selon le mode de traitement (F-ratio=0,500, p=0,483), et selon le type d'extrait (F-ratio= 1.722, p=0,197).

Selon la dose, la différence est très hautement significative (F-ratio= 43.622, p=0,000), et de même selon le temps (F-ratio=49.394, p=0,000) (fig.23).(Annexe3) .

8-3- Evaluation de l'effet des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact

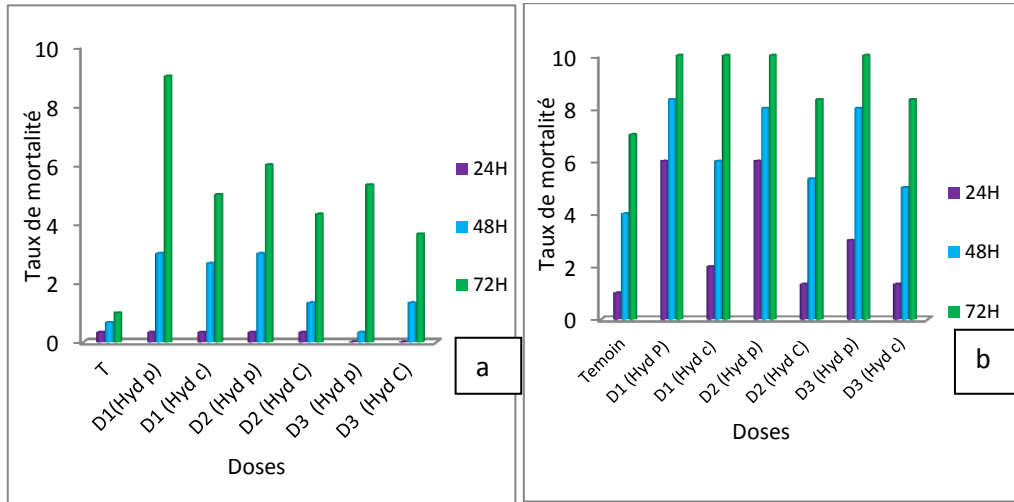


Figure 24: Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)

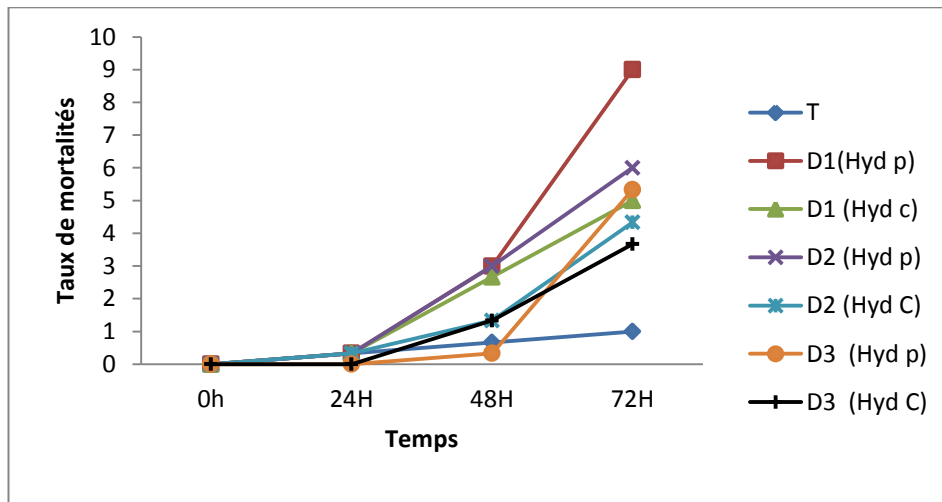


Figure 25: Taux temporelle de mortalité par inhalation

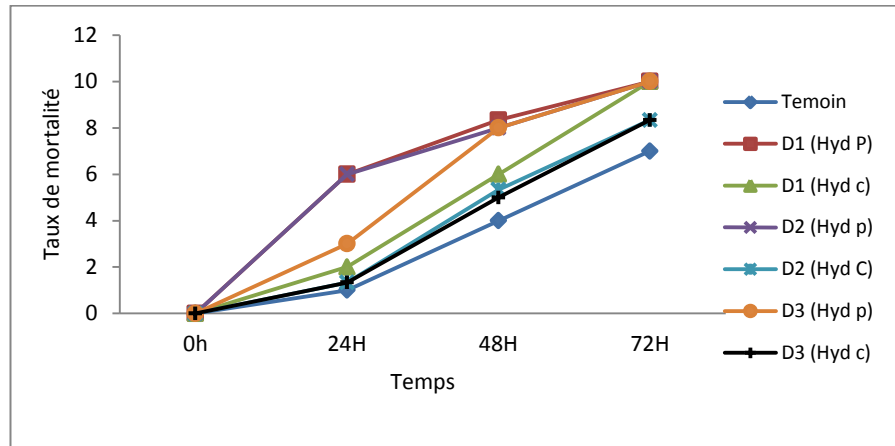


Figure 26 : Taux temporelle de mortalité par contact

D'après les figures (24, 25, 26), nous avons remarqué une efficacité décroissante selon les doses, de D1 (plus forte) à D3 (plus faible) ; et une efficacité croissante selon le temps (24h à 72h) des hydrolats du *C.paradisi* et *C.limon* sur le puceron noir *Aphis fabae* par mode d'inhalation et par contact.

En parallèle, nous avons observés que, par mode d'inhalation, l'hydrolat du *Citrus paradisi* est plus efficace que celle du *Citrus limon* ; et que le traitement par contact est plus efficace que par inhalation pour ces hydrolats.

8-4 Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des hydrolats du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* par inhalation et par contact

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance pour déterminer l'action de l'hydrolat du citron et celle du pamplemousse sur les pucerons noirs de la fève en plusieurs facteurs (Mode, Extrait, Dose, temps), nous avons utilisé le modèle linéaire global (GLM)

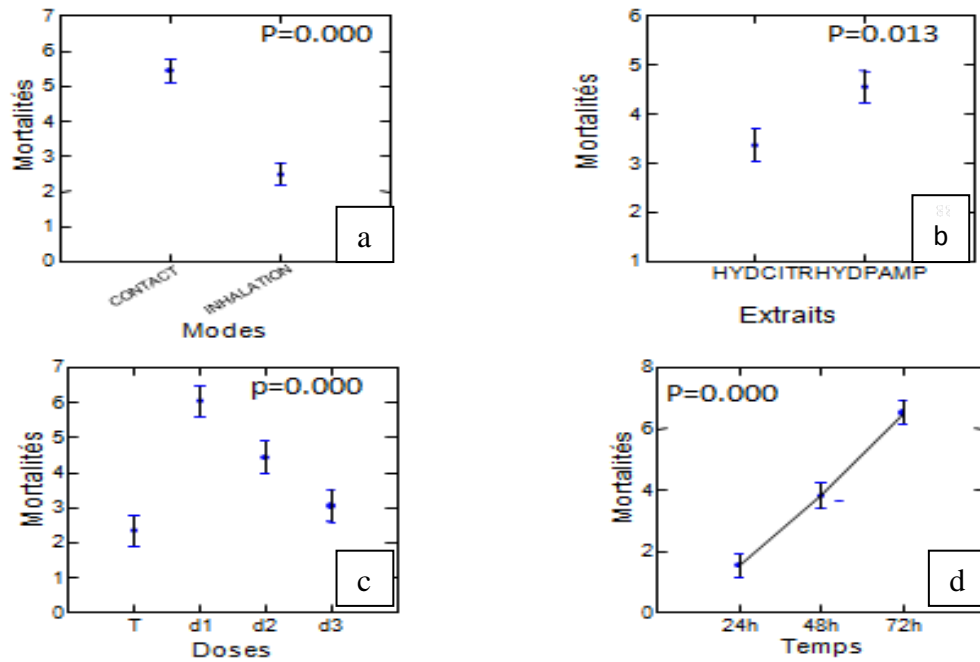


Figure 27: Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)

Selon figure 27(a, b) l'hydrolat de pamplemousse plus efficace avec traitement par contact. Et d'après figure 27(c), nous avons noté que la dose d1 la plus efficace.

L'analyse de la variance par le test (GLM) sur la variation du taux de mortalité, révèle une différence très hautement significative selon le mode (F- ratio= 41,214, $p=0,000$), selon les doses (F- ratio= 12.757, $p=0,000$), et selon les temps (F- ratio = 39.706, $p=0,000$). Par contre selon le type d'extrait, la différence est significative (F- ratio= 6.696, $p= 0.013$). (Fig.27).(Annexe3) .

8-5 Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* par inhalation et par contact.

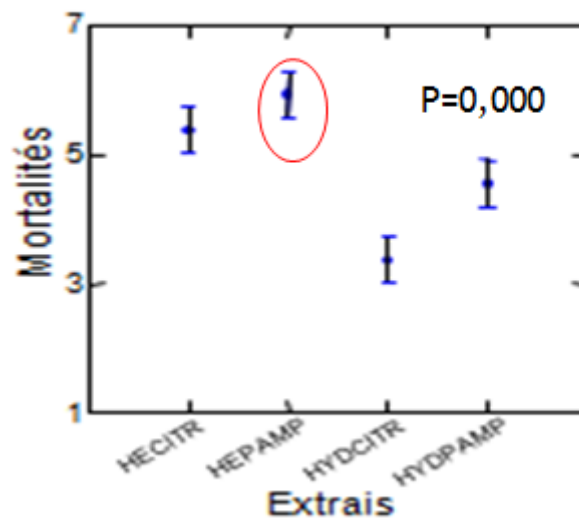


Figure 28: Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse).

D'après la figure ci-dessus, l'extrait ayant l'activité insecticide la plus efficace sur le puceron noir est celle de l'huile essentielle de pamplemousse par inhalation et par contact. Par ailleurs, l'huile essentielle a un effet plus important que l'hydrolat.

L'analyse de variance (test GLM) démontre une différence hautement significative ($p=0,000$) entre l'effet des quatre extraits.

Discussion

BADIS (2013), qui a travaillé sur l'effet biocide de l'huile essentielle des feuilles du *Citrus reticulata* à l'égard du *Tribolium castaneum* (*Ténébrionida*), a montré que l'huile essentielle du *Citrus reticulata* a un effet remarquable sur les larves des insectes traité, avec un effet décroissant selon les doses (dose pure (dp) à dose plus faible (d3)), et un effet croissant selon le temps (24h à 96h). Ces résultats sont rapprochés de nos résultats.

Par contre, DRARENI (2013), qui a travaillé sur la caractérisation chimique des huiles de fruit du *Citrus aurantium* et son action sur le bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (Coléoptère- Bruchidés), a mentionné que le taux de mortalité des bruches par test d'inhalation est plus élevé que par contact, ce qui ne concorde pas avec nos résultats.

Conclusion

Dans la perspective d'élaborer une méthode alternative à l'utilisation systématique des pesticides, notamment le recours aux biopesticides. L'effet biocide des huiles essentielles et des hydrolats de deux plantes aromatique et médicinales qui sont le citron et le pamplemousse sur la survie du puceron noir infestant les plants de la fève a été étudié.

Nous avons démontré à travers cette étude que les huiles essentielles et les hydrolats de deux agrumes testés ont un effet insecticide sur puceron noir. Il nous a été permis aussi de comparer l'effet de chaque plante avec l'autre.

L'effet insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du citron et du pamplemousse sur les pucerons noir est très important, variant en fonction de l'extrait, du mode, des doses et du temps d'exposition.

Le taux de mortalité des pucerons noirs est observé à partir des premières 24h, et augment avec le temps jusqu'à 72h.

Selon les doses, l'activité insecticide est décroissante, de la dose la plus forte (d1=3%) à la dose la plus faible (d3=1%).

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle est plus toxique sur la population du puceron que l'hydrolat ; par ailleurs, l'huile essentielle de pamplemousse est plus efficace que celle du citron.

En parallèle, l'effet de traitement par mode de contact est plus élevé que par inhalation.

Perspectives

En perspective, il est judicieux d'approfondir l'étude sur :

- L'activité bio insecticide des plusieurs extrait (polyphénol, extrait aqueux ...etc.) des agrumes sur le puceron noir de la fève.
- Les activités biologique des huiles essentielles du citron et du pamplemousse pour pouvoir exploité dans le domaine pharmaceutique .

Annexe N° 1

Matériel non biologique

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solution
Hydro-distillation.	Ballon de 500 ml	Tween 80
Etuve.	Micropipette	l'eau de javel
Réfractomètre.	Boites de pétrie	l'acide acétique
Agitateur.	Erlenmeyer	bleu de méthyle
Réfrigérateur.	étiquettes, stylo, feutre	rouge Congo
Balance.	Papier filtre	KOH éthanolique
Spectre IR.	Vaporisateur	diéthylique éthanol à 95%
Microscope optique	Ependorfs	phénolphtaleine
Loupe manuelle	papier aluminium	la burette
	Les flacons	l'eau distillée
	la lame et la lamelle	



Figure 29 : Balance analytique



Fig 30 : spectromètre Infra Rouge à Transformer de Fourier (FTIR)



Figure 31 : Réfractomètre



Figure 32 : Boites de pétrie



Figure 33 : Erlenmeyer

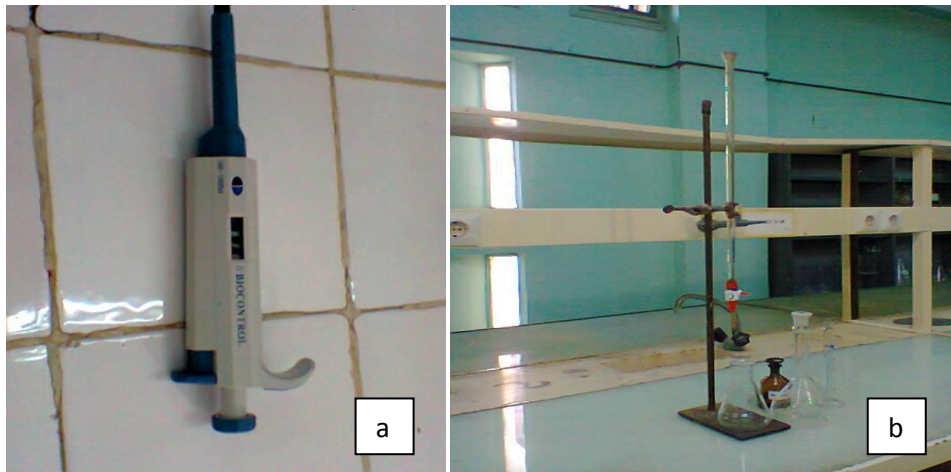
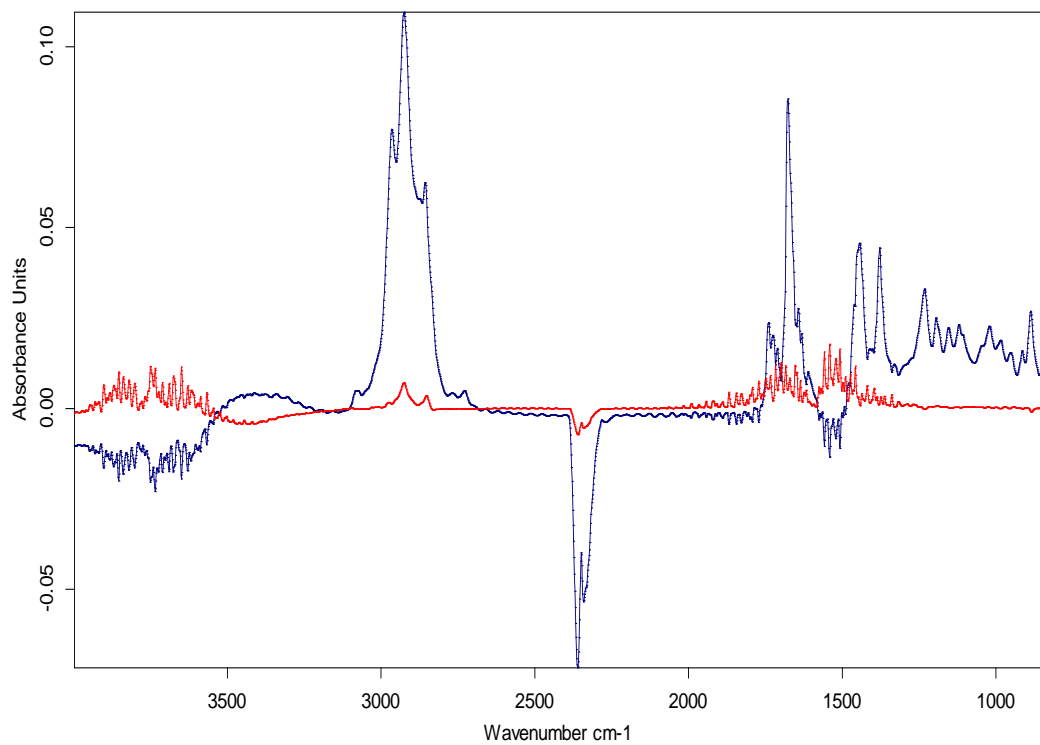


Figure 34 : micropipette (a) et burette (b)

Annexe N° 2



C:\RACHIDa 2014\H E P M.0	HE POMPELMOUSSE	absorbance	23/09/2014
C:\RACHIDa 2014\H E.0	H E CITRON	absorbance	23/09/2014

Figure 35 : spectre IR des huiles essentielles du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi*

Annexe N° 3

Tableau 09 : Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps).

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
MODES	1,018	1	1,018	0,500	0,483
EXTRAIT	3,505	1	3,505	1,722	0,197
DOSES	266,279	3	88,760	43,622	0,000
TEMPS	201,009	2	100,504	49,394	0,000

Tableau 10 : Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
MODES	103,136	1	103,136	41,214	0,000
EXTRAIT	16,756	1	16,756	6,696	0,013
DOSES	95,770	3	31,923	12,757	0,000
TEMPS	198,725	2	99,362	39,706	0,000

Tableau 11 : Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse).

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
MODES	62,323	1	62,323	19,523	0,000
EXTRAIT	89,196	3	29,732	9,314	0,000
DOSES	312,117	3	104,039	32,591	0,000
TEMPS	398,448	2	199,224	62,408	0,000

- **AKROUM ,2006** .Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannin de Rosmarinus officinalis et Vicia faba L. Thèse magister ; Université Mentouri ; Constantine. P .P 06.24.
- **AMRANI 2009** ; Effet de la double inoculation Rhizobium-Champignons mycorhiziens sur la croissance de la féverole et du haricot nain ; Thèse magister ; Biotechnologie ; Université d’Oran Es-Sénia ; 19p
- **ANONYME 1985**.séminaire national sur les légumes secs . caractéristique . exigences et potentiel de production des différentes variétés de légumes secs . ITGC ; P15
- **ANONYME, 2006**. (Toute reproduction est soumise à l’autorisation de la DHHF et du CEHW - Crédit photographique : CEHW Avec l’appui technique de la F.R.E.D.E.C. Nord Pas de Calais Version en date du 17/03/2006 – Document téléchargeable sur www.walhorti.com rubrique Protection Biologique Intégrée).
- **ANONYME, 2009**. (La féverole, plante à ses utilisations).west-indies.fr - BR - Cr_dits Photos : UNIP, Arvalis .Source :www.prolea.com. p02.
- **AUSLOOS P., 2002**. huiles essentielles : un triangle corps-esprit émotion, ou comment l’aromathérapie s’affranchit de la dualité cartésienne.C. aromalve-conception ABC ceate- web,CNILE , n 806675, p 6.
- **BALACHOWSKY A.S ET MESNIL L ,1934**. les insectes nuisibles aux arbres fruitiers, à la vigne, aux graminées des prairies.Ed. Victor. Massé.T I.Paris.627p.
- **BARDEAU F., 1976** : La médecine par les fleurs, Editeur R Laffont, Paris .
- **BENNASSEUR, sd** ; Référentiel pour la Conduite Technique de la fève (Vicia

fabas) ; p 95.

- **BENOUFELLA-KITOUS ; 2005** . Les pucerons des agrumes et leurs ennemis naturels à Oued-Aïssi (Tizi- Ouzou) . Thèse magister. Entomologie appliquée ; Institut National Agronomique d'el Harrach; Alger. p 7.
- **BOIVIN G ., 2001** . parasitoides et lutte biologique : paradigm ou pancée ; (www.document). URL [www.vatung uqam . Ca/ vol2/art8 vol2 n2 /guy biovin html](http://www.vatung.uqam.ca/vol2/art8_vol2_n2/guybiovin.html).
- **BOSSON L. et DIETZ G.** 2005 ; L'hydrolathérapie, thérapie des eaux florales. Ed Amyris, Bruxelles 2005.
- **BRUNETON J ; 1987.**Pharmacognosie, Photochimie, plantes médicinales, Ed technique et documentation. paris, p 585.
- **BRUNETON, 1999.** Pharmagognosie, phytochimie, plantesmédicinales, Edition technique et documentation, 3eme edition Lavoisier .Paris p 585
- **BRUNTON J ; 1993.**pharmacognosie, photochimie. Plantes médicinales Monoterpènes et sesquiterpènes : TEC et DOC ;3eme édition. Ed ;tec et Doc ;484p435
- **BRUNTON J ; 1993.** Pharmacognosie. phytochimie. Plantes médicinales. 2eme édition.Ed ; tec et Doc ; pp 484.435
- **Camille J., Dominique A.et Franck C., 2009;** Des agrumes pour CEVITAL (ALGERIE), Biha. p : 101.
- **Charles, Bernard P., Francis F.L.2000** cette physique phyoprotection Ed. INRA. PARIS p13
- **DAJOZ R., 2000.**éléments d'écologie .Ed. Bordas. Paris ; 5éme édition .540P

- **DUFOUR A. 2007** . Hydrolats : la face douce des huiles essentielles ; Phytothérapie . B.S. N° 100 - Novembre 2007. p 18

- **DURAFFOURD C ;LAPRAZ J.C et VALNET J ;1998** :ABC de la phytothérapie dans les maladies infectieuses-Ed Michel Grancher . France .157P

- **FANNY B .,2008** . effet Larvicide des huiles essentielles sur *stomoxys calcitrans* à la réunion. Thèse pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse. p 78.

- **FRANCHOMME., P ;PENOE L.D ,1990** : L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Ed.Roger Jollois – 445p

- **GRASSE P.P.**, 1951 - Traité de zoologie. Anatomie, Systématique, Insectes Supérieurs et Hémiptéroïdes. Ed. Masson et Cie, T. X, Fasc II, Paris, 1947 p.
- Gupta V., Kohli K., Ghaiye P., Bansal P., Lather A , 2011. pharmacological potentials of citrus paradisi- an overview. Review Article, international journal of phytotherapy research, p8

- **HAMDOUD N., 2012**. Effet du stress salin sur la croissance et la physiologie de la féverole (*Vicia faba* L.). Thèse magistère. Science Agronomique ; école nationale supérieure agronomique El-Harrach .Alger. P 06.

- **HANS F ; 1977**. Petite quide panoramique des herbes médicinales, 3eme edition DELACHAX et NIESTLE S.A. Ed Paris, 187p

- **HULLE M., TURPEAU E., LECLANT F. et RAHN M.J.**, 1998 . Les pucerons des arbres fruitiers. Cycles biologiques et activités de vol. Ed. Asso. coor. tech. Agri. (A.C.T.A.) et Inst. nati. rech. agro. (I.N.R.A.), Paris, p 77.

- **Hullé M., Turpeau-Aitighil É., Robert Y. et Monnet Y., 1999.** Les pucerons des plantes maraîchères. Cycles biologiques et activités de vol. Ed. ACTA, INRA, Paris. 136p.

- **INSTITUT TECHNIQUE DES CULTURES MARAICHÈRES ET INDUSTRIELLES, 2010.** Fiches techniques valorisées des cultures maraîchères et Industrielles. La culture de feve. p02.

- **LAROUSSE , 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales .1. édition. HONG KONG VOL335. P 190

- **Le Bohec J., Robert Y., Grousseau C. et Robic R., 1981.** Les pucerons de l'artichaut. Étude particulière de *Capitophorus horni* Börner et d'*Aphis fabae* Scop. En Bretagne. In : Bernard H., journées d'études et d'informations. Les pucerons des cultures. Paris-2, 3 et 4 Mars. Ed. ACTA. 350p.

- KELLEN et TEPE B.2008.** Chemical composition antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of the salvia species p 99.

- **LECLANT F., 1999.** Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification. I- Grandes cultures. Ed. ACTA, INRA. Paris. p 64.

- **LECLANT, F.1996.** Dégâts et identification des pucerons. PHM Revue Horticole, n° 369, pp.19-24.

- **LESLYE B., 2005.** Plantes aromatique et médicinales .1.production. paris. Vol 306. P 46.

- **LIETTE L ,2005.** Les pucerons dans les légumes de serre : des bêtes de sève. Ed Québec Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation Montégie. P 7.

- **LOUSSERT R ,1989.** Les agrumes. 2. Production. Lavoisier, Paris. p 157

- **LOUSSERT R., 1989 B** : Les agrumes 1, Arboriculture, Edit. Lavoisier, Paris. p113.
- **MARC 2004** ; les pucerons ; Dossier technique n°2. Conception et réduction par asbl Adalia .p02.
- **MERADSI ,2009** . Contribution à l'étude de la résistance naturelle de la fève *Vicia faba* L. au puceron noir *Aphis fabae* Scopoli, 1763(Homoptera: Aphididae) ; Thèse magister ; Entomologie agricole et forestière ; Université El-Hadj Lakhdar – Batna ; p, p 8.9.
- **MEZANI 2011**.Bio écologie du bruché de la fève bréclus ruimanus Boh (coleoptera bruchidae) dans des parcelles des variétés de fèves différentes et de féverole dans la région de Tizi Rached (Tizi –Ouizou).Thèse magister. science biologique.université Mouloud Mammeri .Tizi- Ouizo. P 06
- **Moule, 1972** : plantes sarcteés et diverses , la maison rustique. Paris p01.
- **Raynaud,2008** ; la carte d'identité du pamplemousse ; Sources : Saveurs du Monde. <http://www.saveursdumonde.net/> . Dessins Clipart.
- **NOUIOUA ; 2012**. biodiversite et ressources phytogenetiques d'un ecosysteme forestier « *Paeonia mascula* (L.) Mill. ». Thèse magister. Biodiversité et gestion des écosystèmes universit FERHAT ABBAS – SETIF. p 22.
- **POLESE J-M., 2005** : La culture des agrumes, édition Artémis, Paris, 93p.
- **Polèse J-M., 2008** : La culture des agrumes, 2ème édition Artémis, Paris, p 93.
- **RAYNAUD J ., 2006**.prescription et conseil en aroma thérapie,Ed médicales internationales, 247p

- **REDACTION P. JAMONNEAU, N. LECAT ET P. JOUGLAIN2002.** L a feverole en agriculture biologique .Conception : CRAA • Impression : Imprimerie de La Roque Crédit photos : Union Agribio (N. Lecat) • Date).
- **REGAB, FOURNIER et RUSSELL,2003.** Citrus flaveur,journal of agricultural .p133
- **REMAUDIERE G. et REMAUDIERE M., 1997** - Catalogue des Aphididae du monde. Of the World's Aphididae ; Homoptera. Aphidoïdae. Ed. Inst. nati. rech. agro, Paris,473 p.
- **RICHARD, 1992** : les aromes alimentaire Ed, Lavoisier, paris.538p (science et technique agroalimentaire).
- **SALLE J .,** 1991. les huiles essentielles synthèse de l'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed Frison-roche. Paris. P16, 18,19 ,23
-

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

UNIVERSITE DE BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département des Biotechnologies

Filière des sciences agronomiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie

Specialité : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et Produit Naturels

Thème :

Etude de l'efficacité des huiles essentielles du pamplemousse (*Citrus paradisi*) et du citron (*Citrus limon*) et de leurs hydrolats à l'égard du puceron noir (*Aphis fabae* S.) de la fève (*Vicia faba* L.).

Présenté par : **Asmaa AIDA**

Devant le jury composé de :

Mr ELHADI.D	Maitre de conférence	U.S.D.B.	Président
Mme MOUMENE	Maitre Assistante	U.S.D.B.	Examinatrice
Melle CHEBATA.N	Maitre Assistante	U.S.D.B.	Examinatrice
Mme BELGUENDOZ.R.	Maitre de conférences	U.S.D.B.	Promotrice
Mr BENDALI.A.A	Maitre Assistant	U.S.D.B.	Co-promoteur

Année universitaire: 2013 - 2014

Résumé :

Notre travail consiste à évaluer l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du citron (*Citrus limon*) et du pamplemousse (*Citrus paradisi*) sur le puceron noir (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*). L'extraction des huiles essentielles et des hydrolats des écorces du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* a été réalisé par hydro distillation. Le rendement en huiles essentielles de deux espèces étudiées est de 2,3%, 1,55% respectivement. Les dilutions d'huiles sont de 3% (D1), 2% (D2) et 1% (D3) et celle des hydrolats sont de 100% (D1), 75% (D2) et 50% (D3). Ces dilutions sont utilisées comme biopesticide contre les pucerons noirs de la fève par deux modes : inhalation et contact. Les trois doses d'huiles essentielles (3%,2%et1%) et des hydrolats (100%,75% et50%), ont exprimés une activité biocide contre le puceron noir de la fève après un temps de 24h jusqu'à 72h par les deux modes de traitement. Néanmoins, l'activité insecticide d'huile essentielle est largement supérieure à celle de l'hydrolat. La dose « D1 » d'huile essentielle et de l'hydrolat ont montrées une meilleure efficacité. L'huile essentielle plus important c'est l'huile de pamplemousse (100% par contact et 96% par inhalation) et ce lui de l'hydrolat (100% par inhalation et 90% par contact) après 72h. Le mode qui a donné une activité insecticide remarquable est le mode par contact.

Mots clés: *Citrus limon*, *Citrus paradisi* , huile essentielle, hydrolat , *Aphis fabae* , *Vicia faba*, bioinsecticide.

Summary:

Our work consists in evaluating the insecticidal activity of essential oils and the medicated water of lemon (*Citrus limon*) and the grapefruit (*Citrus paradisi*) on the black plant louse (*Aphid fabae*) of broad bean (*Vicia faba*). The extraction of essential oils and the medicated water of the barks of the *Citrus limon* and the *Citrus paradisi* was carried out by hydro distillation. The essential oil yield of two studied species is of 2,3%, 1,55% respectively. Dilutions of oils are of 3% (D1), 2% (D2) and 1% (D3) and that of the medicated water are of 100% (D1), 75% (D2) and 50% (D3). These dilutions are used like biopesticidal against the black plant louses of broad bean by two modes: inhalation and contact. The three amounts of essential oils (3%, 2% and 1%) and the medicated water (100%, 75% and 50%) expressed a biocidal activity against the black plant louse of broad bean after a time of 24:00 until 72h by the two modes of treatment. Nevertheless, the insecticidal activity of essential oil is largely higher than that of the medicated water. The amount "D1" of essential oil and the medicated water showed a better effectiveness. Best caused death rate is obtained by the grapefruit oil (100% by contact and 96% by inhalation) and this one of the medicated water (100% by contact and 90% by contact) after 72h. The mode which gave a remarkable insecticidal activity is the mode by contact.

Key words: *Citrus limon*, *Citrus paradisi*, essential oil, medicated water, *Aphid fabae*, *Vicia faba*, bioinsecticidal.

ملخص

العمل الذي قمنا به يتمثل في دراسة فعالية مبيدات طبيعية من أصل زيوت أساسية أو مياه معطرة مستخرجة من صنفين من الحمضيات وهما: الليمون (*Citrus limon*) والليمون الهندي (*Citrus paradisi*) على قملة النبات السوداء (*Aphis fabae*) الذي يصيب نبات الفول (*Vicia faba*). تم استخراج الزيوت الأساسية والمياه المعطرة بطريقة التقطير، مردود هذه الزيوت الأساسية لقشور الليمون والليمون الهندي هو على التوالي 2,3% و 1,55%. بعد استخراج الزيوت والمياه المعطرة قمنا بعملية الإماهة للحصول على ثلاث جرعات حسب الآتي: بالنسبة للزيوت الأساسية الجرعة الأولى 3%، الجرعة الثانية 2% والجرعة الثالثة 1%، أما بالنسبة للمياه المعطرة الجرعة الأولى 100%، الجرعة الثانية 75% والجرعة الثالثة 50%، هذه الجرعات تستعمل كمبيد طبيعي ضد قملة النبات السوداء الموجودة بنبات الفول والمعالجة تتم بطريقتين هما: طريقة الرش على القملة مباشرة وطريقة اللمس أي الرش على ورقة الترشيح ثم وضع مجموعة من قمل النبات الأسود عليها. بعد المعالجة نستنتج أن كل الجرعات سواء من الزيوت الأساسية (3%، 2%، 1%) أو من المياه المعطرة (100%، 75%، 50%) لديها فعالية ضد الحشرة المدروسة بمجرد مرور 24 ساعة وتزداد الفعالية مع مرور الزمن حتى 72 ساعة. إن الجرعة الجد فعالة سواء بالنسبة للزيوت الأساسية أو المياه المعطرة هي الجرعة الأولى وأن الزيت الأساسي المستخرج من قشور الليمون الهندي هو الجد فعال، أما بالنسبة لطريقة المعالجة فإن طريقة الرش هي الأكثر فعالية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، المياه المعطرة، مبيد طبيعي، الليمون، الليمون الهندي، قملة النبات السوداء.

La liste des figures :

Figure 01 :	Morphologie de la fève. a: Fleurs et feuilles ; b: Gousse ; c: Graines	05
Figure 02 :	Production mondiale de la fève	06
Figure 03 :	La rouille(a)et botrytis(b) (ITCMI, 2010)	08
Figure 04 :	Puceron noir	09
Figure 05 :	La forme aptère d' <i>Aphis fabae</i> (MERADSI, 2009).	11
Figure 06 :	La forme Ailé d' <i>Aphis fabae</i> (MERADSI, 2009).	11
Figure 07 :	Fruit du citron	15
Figure 08 :	Fruit de pamplemousse	16
Figure 09 :	Echantillonnage (a) des fruits de pamplemousse (b) et de citron (c) et les écorces obtenus par grattage (d).	25
Figure 10 :	Les pucerons noirs de la fève	25
Figure 11 :	Hydro distillation.	27
Figure 12 :	Réalisation de coupes histologique	29
Figure 13 :	Test par contact	34
Figure 14 :	Test par inhalation	34
Figure 15 :	La teneur en eau des écorces du <i>C. limon</i> et du <i>C.paradisi</i>	35
Figure 16 :	Rendement en huiles essentielles du <i>C. limon</i> et du <i>C. paradisi</i>	36
Figure 17 :	Coupe transversale du péricarpe de pamplemousse observé au microscope optique G 100x	36
Figure 18 :	Coupe transversale du péricarpe de citron observé au microscope optique G 100x	37
Figure 19 :	Cristaux d'oxalates de calcium observés au microscope optique à G100X.	37
Figure 20 :	Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)	40
Figure 21 :	Taux temporelle de mortalité par inhalation	40

Figure 22 :	Taux temporelle de mortalité par contact	40
Figure 23 :	Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps)	42
Figure 24 :	Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)	43
Figure 25 :	Taux temporelle de mortalité par inhalation	43
Figure 26 :	Taux temporelle de mortalité par contact	44
Figure 27 :	Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)	45
Figure 28 :	Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse).	46
Figure 29 :	Balance analytique	Annexe 1
Figure 30 :	spectromètre Infra Rouge à Transformer de Fourier (FTIR)	Annexe 1
Figure 31 :	Réfractomètre	Annexe 1
Figure 32 :	Boites de pétrie	Annexe 1
Figure 33 :	Erlenmeyer	Annexe 1
Figure 34 :	micropipette (a) et burette (b)	Annexe 1
Figure 35 :	Spectre IR des huiles essentielles du <i>Citrus limon</i> et du <i>Citrus paradisi</i>	Annexe 2

Liste des tableaux :

Tableau 01:	Les variétés de fèves inscrites au catalogue officiel (Bennasseur,sd).	06
Tableau 2 :	Evolution des superficies, productions et rendements des fèves (2005/2010)	07
Tableau 3 :	Les maladies les plus répandues chez la fève	08
Tableau 04:	Répartition de la production agrumicole algérienne par espèce.	15
Tableau05:	Rendement des huiles essentielles du citron et du pamplemousse	36
Tableau 06:	Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du citron et du pamplemousse	39
Tableau 07:	L'indice d'acidité des huiles essentielles et des hydrolats des deux agrumes.	39
Tableau 08 :	L'indice de réfraction des huiles essentielles et des hydrolats du Citrus limon et du Citrus paradisi	40
Tableau 09 :	Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps).	Annexe 3
Tableau 10 :	Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)	Annexe 3
Tableau 11 :	Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse)	Annexe 3

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie bibliographie

Chapitre 1 : la fève	
1- Généralités.....	04
2- La fève.....	04
3- Classification.....	05
4- Description botanique.....	05
5- Les variétés de fèves.....	05
6- Origine géographique.....	06
7- Constituants de la fève.....	07
8- Utilisation de la fève.....	07
9- Importance économique de la fève.....	07
10- Les maladies de la fève.....	08
11- Les ravageurs de la fève.....	09
Chapitre 2 : le puceron noir	
1- Généralité.....	10
2- Le puceron noir de la fève.....	10
3- Description.....	10
4- Classification.....	11
5- Plantes hôtes.....	12
6- Cycle de vie.....	12
7- Les dégâts.....	12
8- La lutte.....	13
Chapitre 3 : Plantes étudié	
1- Généralités sur les agrumes.....	14
2- Importance économique des agrumes en Algérie.....	14
3- Citrons (<i>C. limon</i>).....	15
3-1- Classification botanique.....	15
3-2- Habitat et culture.....	15
3-3- Description botanique.....	16

4- Pamlemousse (<i>Citrus paradisi</i>)	16
4-1- Classification botanique.....	16
4-2- Historique.....	16
4-3- Description botanique.....	17

Chapitre 4 : Huile essentielles et l'hydrolat.....

1- Huile essentielles.....	18
1-1- Définition.....	18
1-2- Localisation des huiles essentielles.....	18
1-3- Le rôle des Huiles essentielles.....	18
1-4- Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	19
1-5- Identification des huiles essentielles.....	20
1-6- Composition chimique des huiles essentielles.....	20
1-7- Propriétés physico-chimique.....	20
1-8- Domaine d'application des huiles essentielles.....	21
2- L'hydrolat.....	22
2-1- Définition.....	22
2-2- propriétés des hydrolats.....	22
2-3- Utilisation.....	22

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthode

1- Objectif.....	24
2- Matériel.....	24
2-1- Matériel végétal.....	24
2-2- Matériel animal.....	25
2-3- Matériel de laboratoire.....	26
3- Méthodes.....	26
3-1- Détermination de la teneur en eau.....	26
3-2- L'extraction des huiles essentielles et des hydrolats par hydro distillation.....	27
3-3- Réalisation de coupes histologique sur les écorces d'agrume.....	28
3-4- Caractérisation chimique des huiles essentielles et des les hydrolats.....	29
3-4-1- Propriétés organoleptiques.....	30

3-4-2- Propriétés chimiques.....	30
3-4-2-1- Indice d'acidité.....	30
3-4-2-2- Détermination de l'indice de réfraction.....	31
3-4-2-3- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR).....	32
3-5- Test d'efficacité des huiles essentielles et leurs hydrolats sur le puceron noir de la fève.....	32
3-5-1- Préparation des doses.....	32
3-5-2- Application des traitements.....	33

Chapitre 2 : Résultats et discussions

1- Teneur en eau.....	36
2- Détermination du rendement des huiles essentielles du C. limon et du C. Paradisi.....	36
3- Etude histologique des écorces d'agrumes.....	37
4- Les caractéristiques organoleptiques.....	39
5- Détermination de l'indice d'acidité.....	39
6- Détermination de l'indice de réfraction.....	40
7- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR)	40
8- Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats	41
8-1- Evaluation de l'effet des huiles essentielles du Citrus paradisi et du citrus limon par inhalation et par contact.....	41
8-2- Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	43
8-3- Evaluation de l'effet des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	43
8-4- Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	45
8-5- Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles et des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact.....	47
conclusion	48

Références

Annexe

Les pucerons noir sont des ravageurs redoutables pour les plantes cultivées, causent des dommages aux plantes par le prélèvement de la sève et de ce fait des éléments nutritifs, ainsi que par l'action irritante et toxique des piqûres et de la salive injectée (ANONYME, 2009).

Parmi ses plantes hôtes nous situons la fève (*Vicia faba* L) qui est une légumineuse de la famille des fabacées. Elle essentiellement alimentaire, renfermant des acides aminés nécessaires, les vitamines et divers minéraux .Toutes ces propriétés lui confèrent des fonctions diurétiques, énergétiques, expectorantes, nutritives, reconstituantes et tonique. Les extraits de cette espèce ont été également utilisés dans le domaine médicale, notamment comme anticancéreux (AKROUM, 2006).

Ces intérêts économiques et médicaux de la fève, nous ont poussés à penser aux moyens biologiques de control de ces ravageurs. Depuis quelques années la lutte biologique et l'utilisation des bio pesticides occupent une place de choix, car ils prêtent souvent à la production de masse requise pour industrie, ces bio pesticides peuvent être à base d'extraction de plante (CHARLE et *al*, 2000).

Les substances d'origine végétale, en particulier les huiles essentielles, sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages.

Dans le cadre de la recherche sur les procédés de lute biologique basé sur l'extraction des plantes, et en vue de la valorisation des produits naturels jeter dans la nature tels que les écorces des fruits d'agrumes, nous sommes intéressés à la mise en évidence de l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats des écorces du citron (*Citrus limon Eureka*) et du pamplemousse (*Citrus paradisi*) sur les pucerons noirs (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*). Enfin, les objectifs de notre travail sont :

- * Evaluation de l'activité bio insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du citron et du pamplemousse sur le puceron noir de la fève.

- * Protection de la fève qui est considérée comme plante à potentiel nutritionnel et comme plantes médicinale.

Ce travail comprend donc deux parties essentielles :

Partie 1 : renferme la recherche bibliographique sur la plante, les huiles et les hydrolats et le ravageur de la fève (Puceron noir : *Aphis fabae*).

Partie 2 : comprend l'extraction des huiles essentielles et des hydrolats du citron et du pamplemousse, détermination des propriétés physique et chimique de deux plantes, l'étude du pouvoir insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus paradisi* et *Citrus limon* *Eureka* sur puceron noir (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*).

1- Généralités

Le groupe des légumineuses à graines comporte un nombre assez important d'espèces. Citons notamment : la fève, le pois, le haricot, la lentille et le soja. Leurs graines sont beaucoup plus riches en protides, moins riches en glucides et de même teneur en lipides que le grain des céréales, leurs compositions par rapport à leurs teneurs en matière sèche est la suivante : Protides 22 à 25 % (soja, 32 à 34%), Glucides 48 à 54 % (soja, 30 à 31 %) et Lipides 1 à 4 % (soja, 16 à 18 %) (MOULE, 1972).

En Algérie, les légumineuses alimentaires (légumes secs), font partie du paysage agricole depuis des millénaires. Ces cultures sont utilisées en alternance avec les céréales car ils enrichissent le sol en azote. Les légumes secs constituent une importante source protéique susceptible de remplacer les protéines animales difficilement accessibles pour une large couche de la population. Ils sont aussi calorifiques et riches en glucides que le blé.

2- La fève

La fève est une légumineuse de la famille des fabacées. Les formes arborescentes prédominent dans les pays chauds et les formes herbacées dans les régions tempérées. Cette espèce s'accommode à tous les sols (sauf ceux trop secs), de préférence argilo-calcaires, profonds et frais. C'est une plante méditerranéenne. (AKROUM, 2006). Elle est :

- Enrichissante, fixe l'azote grâce aux nodosités.
- A longévité moyenne de la graine : 5 à 6 ans.
- A germination : 6°C lui est nécessaire pour la levée.
- A dose de semis : 150 à 200 kg / ha
- A cycle végétatif : 120 jours. (ITCMI 2010).

3- Classification

D'après Dajoz(2000) in Mezani (2011), la fève se classe comme suit :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous- embranchement :	Angiospermes
Classe :	dicotéledone
Sous classe:	Dialypétales
Ordre :	Rosales
Famille :	Fabaceae
Genre :	<i>Vicia</i>
Espèce :	<i>Vicia faba L</i>

4- Description botanique

C'est une plante dont la taille peut dépasser 1 m, ces feuilles sont glabres et composées de deux ou trois paires de folioles opposées de forme ovale, son système racinaire est développé et descend profondément dans le sol. Les fleurs sont de couleur blanche ou violacée, sont disposées par grappes de 2 à 9 fleurs à l'aisselle des feuilles. Le fruit est une gousse verte en végétation, noirâtre à maturité et contenant quelques grains bruns noirâtres (AMRANI.2009) (Fig. 01)



Figure 01 : Morphologie de la fève. a: Fleurs et feuilles ; b: Gousse ; c: Graines

5- Les variétés de fèves :

Le nombre de variétés inscrites au catalogue officiel est limité pour la fève.(Tableau 01)

Tableau 01: Les variétés de fèves inscrites au catalogue officiel (Bennasseur,sd)

Fève	Caractéristiques
Agrex	Très précoce
Aguadulce	Tardives à grosses graines.
Aguadulce supersimonia	Extra hâtive à grains violets à très longue cosse
Karabiga	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.
Lobab	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985
Defes	Elle est inscrite au catalogue officiel en 1985.

6- Origine géographique.

La fève *V.faba* L est originaire des régions méditerranéennes, du Moyen-Orient (MEZANI 2011), plus particulièrement de chine, pays qui fournit les deux tiers de la production mondiale (ANONYME, 2005), elle joue un rôle important dans l'alimentation des peuples africains, asiatiques, du Moyen – orient et de certaines populations européennes. (Fig. 02).

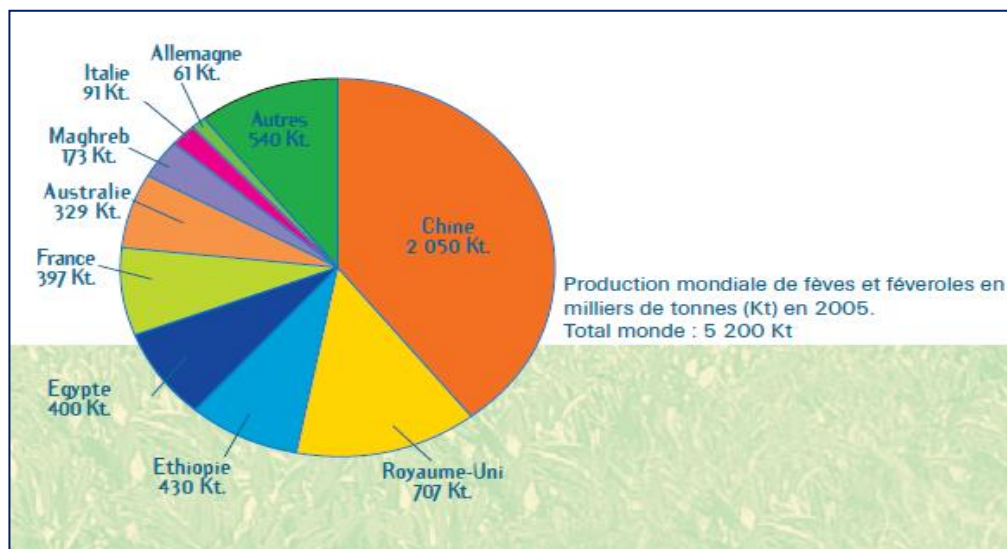


Figure 02 : production mondiale de la fève

Source : www.prolea.com

7- Constituants de la fève

La fève est essentiellement alimentaire, renfermant des acides aminés nécessaires et que l'on ne trouve pas dans les céréales. Elle contient aussi des vitamines, ex : A, B1, B2, C, E et divers minéraux dont le calcium, le cuivre, le fer et le magnésium. Toutes ces propriétés lui confèrent des fonctions diurétiques, énergétiques, expectorantes, nutritives, reconstituantes et toniques

8- Utilisation de la fève

La principale utilisation de la *Vicia faba L* est alimentaire : les fèves se consomment crues, dans ce cas les gousses sont cueillies à demi-maturité, ou se conservent à sec, et là les gousses se récoltent quand elles sont noires.

Si la cuisson est insuffisante ou la consommation est excessive, cette plante provoque des graves affections, en raison des substances toxiques qu'elle contient (AKROUM, 2006).

9- Importance économique de la fève

La fève constitue la plus importante culture parmi les légumineuses à grosse graine tant au niveau de la superficie que de la production (HAMDOUN; 2012).

Tableau 2 : Evolution des superficies, productions et rendements des fèves (2005/2010).

Années	Superficie (ha)	Production (q)	Rendement (q/ha)
2005	35047	268580	7.7
2006	33537	242986	7.2
2007	31253	279735	9.0
2008	30688	235210	7.7
2009	2278	364949	11.3
2010	34210	360252	10.7
Moyenne (2005-10)	32835.5	291952	8.93

Source : Statistiques Agricoles série B. 2005 à 2010.

10- Les maladies de la fève

La fève est attaquée par plusieurs maladies qui peuvent affecter sérieusement le rendement et la qualité. Les parcelles qui doivent être plantées doivent être soigneusement sélectionnées vu que la plupart des maladies sont commune chez autres cultures.

Les maladies les plus problématiques chez la fève sont mentionnées et caractérisées dans le tableau ci-dessous. (Bennasseur ;sd)

Tableau 3 : Les maladies les plus répandues chez la fève

Les maladies	Symptômes et dégâts
Anthraxnose	-La maladie se manifeste par des tâches sur les feuilles, les gousses, et les tiges.
Botrytis	-La maladie cause des tâches de couleur rouge brun sur les feuilles, tiges et gousses. (Fig03) -Ces tâches ou lésions peuvent causer une défoliation de la plante et même sa mort.
La rouille	-Cette maladie se manifeste par des taches brunes à rougeâtres sur les feuilles, causant un dessèchement et la chute des feuilles. (Fig03)



Figure 03 : la rouille(a)et botrytis(b) (ITCMI, 2010)

11- Les ravageurs de la fève

11-1- Les sitones

La fève est sensible aux sitones de la levée au stade 5-6 feuilles. Les risques sont plus élevés en hiver sec et doux et dans les rotations incluant des légumineuses. L'impact est cependant rarement préjudiciable. (JAMONNEAU et *al...*2002).

11-2- Les pucerons noirs

Le puceron noir vit en colonies compactes, à l'extrémité des plantes de fève. Il provoque l'enroulement, le dessèchement et la chute des feuilles (HAMADACHE, 2003). (Fig04)



Figure 04 : Puceron noir

11-3- Les bruches

Elles apparaissent pendant la formation des gousses. Elles n'induisent pas d'incidence directe sur le rendement mais sur les graines après la récolte (lors de la conservation, au stockage et lors de la commercialisation) (JAMONNEAU et *al...*2002).

1- Généralité :

Le puceron est petits insectes parasites des végétaux, se fixant sur leurs racines, tiges et feuilles et se nourrissant de leur sève (ENCARTA 2009).

Il est l'un des principaux ravageurs en culture ornementale sous abris. Il s'attaque à tous les types de plante et provoque rapidement des dégâts importants. Sa vitesse de reproduction et sa capacité de dispersion permettent au puceron d'envahir très rapidement une culture. Il est d'autant plus nuisible qu'il est susceptible de transmettre des virus (ANONYME, 2006).

2- Le puceron noir de la fève :

L'*Aphis fabae* est l'une des espèces les plus polyphages qui soient, il peut évoluer sur plus de 200 plantes. Il se trouve au printemps sur Fusain d'Europe (*Euonymus europeae*), sur la Boule de neige (*Viburnum opulus*) ou sur Seringat (*Philadelphus sp.*) et migre en mai vers ses autres plantes-hôtes. (MARC, 2004).

D'après LECLANT(1999) cette espèce se présente sous deux formes L'une aptère et l'autre ailée.

3- Description :

Forme aptère : 1,5 à 2,9 mm de long, noire à brun-noirâtre, présentant souvent des taches de cire blanchâtres sur l'abdomen. Les antennes sont plus courtes que le corps, les cornicules sont foncées, assez courtes. (Fig05)

Forme Ailé : 1,8 à 2,7 mm de long ; de couleur noire, avec des points de cire blanche bien visibles (LECLANT, 1996). (Fig06)



Figure 05 : La forme aptère d'*Aphis fabae* (MERADSI, 2009).



Figure 06: La forme Ailé d'*Aphis fabae* (MERADSI, 2009).

4- Classification :

D'après BALACHOWESKY et MESNIL(1934) ; GRASSE (1951) et REMAUDIERE (1997).

Embranchement :	Arthropodes
Sous embranchement :	Mandibulates
Classe :	Insectes
Sous classe :	Ptérygotes
Super ordre :	Hémiptéroïdes
Ordre :	Homoptera
Sous ordre :	Aphidinea
Super famille :	Aphidoïdae
Famille :	Aphididae
Sous famille :	Aphidinae
Genre :	<i>Aphis</i>
Espèce :	<i>Aphis fabae scopoli</i>

5- Plantes hôtes

Les hôtes primaires des pucerons noirs sont principalement des arbustes : Fusain d'Europe (*Euonymus europaeus*), la boule de neige (*Viburnum opulus*) et seringat (*Philadelphus coronarius*). Ces plantes hôtes secondaires peuvent appartenir aux Fabacées, Chénopodiacées, Astéracées, Brassicacées, Solanacées, ainsi que diverses cultures florales et ornementales. (HULLE *et al*, 1999).

6- Cycle de vie :

Dès le mois de mars, après l'éclosion des œufs d'hiver, plusieurs générations parthénogénétiques se développent sur l'hôte primaire. La proportion d'ailés augmente alors au sein des colonies. Les premiers ailés s'observent au cours du mois d'avril. Ces individus seront à l'origine de colonies en manchons parfois très denses sur les plantes hôtes secondaires sauvages et cultivées. Les ailés impliqués dans la reproduction sexuée apparaissent à l'automne et regagnent l'hôte primaire.

La fécondation et la ponte intervenant au courant du mois d'octobre. La reproduction sexuée n'est pas toujours obligatoire chez ce puceron. Dans les régions à climat doux, des populations peuvent de maintenir tout l'hiver sur des hôtes secondaires en continuant à se multiplier par parthénogenèse (BOHEC *et al*, 1981; HULLE *et al*, 1999) in (MERADSI, 2009)

7- Les dégâts :

Le puceron noir est un insecte piqueur et suceur, Il se nourrit de la sève des feuilles et des jeunes pousses, il peut ainsi occasionner d'importants dégâts, la croissance de la plante peut être freinée, la plante s'affaiblit. On peut également observer un avortement des fleurs, la chute des feuilles ou des dessèchements de pousses (LECLANT, 1996).

Le produit de la digestion du puceron noir est très riche en sucre (le miellat). Ce miellat provoque aussi des brûlures sur le feuillage et favorisent le développement de la fumagine .de plus, Le puceron noir peut transmettre plus de 30 virus pathogènes. (BLACKMAN et EASTOP, 2007).reduite

8- La lutte :**8-1- La lute préventive :**

D'après (LIETTE, 2005) avant de lutter contre n'importe quelle maladie ou ravageur dans une culture, il faut la préserver par les méthodes culturales à savoir :

- _ Eliminer les mauvaises herbes dans les champs.
- _ Inspecter soigneusement tout nouvel arrivage de plantes.
- _ Soyer très attentifs aux premiers signes dès leur présence.
- _ Les pièges collants ne servent qu'à détecter les pucerons ailés qui arrivent de l'extérieur ou qui naissent de foyers d'infestation déjà présents ; ce n'est donc pas un bon outil de dépistage pour les pucerons.

8-2- La lute biologique :

La définition de la lutte biologique dans son sens large concerne l'utilisation d'organisme vivant tel les ennemis naturels (parasitoïdes, prédateurs, pathogènes, antagonistes ou une population compétitrice) dans la bute de diminuer et de rendre moins dommageable une population de ravageur (BOIVIN, 2001).

1- Généralités sur les agrumes

Le terme « Agrumes » est utilisé au même titre que les « *Citrus* » et « Aurantiacées » dans la littérature. Ce terme désigne tous les arbres qui portent des fruits acides (BENOUFELLA-KITOUS, 2005).

Les agrumes, appelés aussi hespéridés, sont des arbres fruitiers cultivés sous nos climats tempérés, ils sont originaires d'Asie subtropicale et plus particulièrement d'une zone allant du nord-est de l'Inde jusqu'au nord de l'Indonésie, en passant par le Myanmar (Birmanie) et le sud de la Chine (CAMILLE *et al*, 2009).

Selon (LESLYE.2005) les genres (*Citrus*) comprennent environ 16 espèces d'arbres et arbustes sempervirens aux fleurs parfumées aux fruits segmentés, aromatiques et riches en vitamine C.

2- Importance économique des agrumes en Algérie

La culture des agrumes revêt une importance stratégique en sa qualité de source d'approvisionnement en fruits frais et des débouchés sur le marché international des produits agrumicoles. Sur le plan social, la culture emploie en moyenne 140 jours/ha/an, sans compter ceux générés par l'environnement de ce secteur (transformations, commercialisation). (BICHE. 2012).

Les vergers de *Citrus* couvrent en Algérie une superficie totale de 45.979 hectares soit 0,6% de la surface agricole et 11% de la surface arboricole. Ces vergers sont implantés dans les plaines les plus riches, réunissant les conditions de climat, de sol et d'infrastructure exigées par la culture. Au cours de la campagne 2001/2002, les superficies en production (en rapport) ont représenté 80,16% de la superficie complantée avec un rendement de 117,9 Q/Ha.

La répartition de la production agrumicole par espèce, consignée dans le Tableau 04, montre que se sont les oranges qui occupent la première place en Algérie, suivi par les clémentines, puis par les autres espèces. (BENOUFELLA-KITOUS, 2005)

Tableau 04: Répartition de la production agrumicole algérienne par espèce.

Variétés	Production en Q
Oranges (<i>C. sinensis</i>)	3 270 830
Clémentines (<i>C. clementina</i>)	907 350
Citrons (<i>C. limon</i>)	316 440
Mandarines (<i>C. reticulata</i>)	193 520

3- Citrons (*C. limon*) :

3-1- Systématique:

Selon PADRINI et LUCHERONI (1996), la classification de citron est la suivante :

Embranchement : Spermaphytes
 Classe : Eudicotylédones
 Ordre : Sapindales
 Famille : Rutaceae
 Genre : *Citrus*
 Espèce : *Citrus limon*



Figure 07: Fruit du citron

3-2-Habitat et culture

Le citronnier serait originaire d'Inde Cultive en Europe, il est aujourd'hui répandu dans les régions au climat méditerranéen et subtropical du monde entier. On le multiplie par semis au printemps, sur un sol bien draine et très expose au soleil les fruits se récoltent en hiver, quand leur teneur en vitamine C est maximale (LAROUSSE ; 2001).

3-3-Description de fruit

Originaire de Californie 1858, arbre de 3 à 5m à feuilles persistantes, odorantes, lancéolées, à floraison remontante permettant des fruits de moyen calibre. Fleurs blanches nombreuses, rosées et parfumées, à 5 pétales charnus et 10 étamines. Ecorce jaune vif au printemps et en été (LOUSSERT, 1989 ; POLESE, 2005).

Ces fruits utilisés comme antiseptiques, cicatrisants, stomachique, carminatif, et diurétique, Les feuilles sédatives en infusion (BARDEAU, 1976).

4-Pamplemousse (*Citrus paradisi*)

4-1 Systématique :

Selon LOUSSERT (1989), la classification de pamplemousse est la suivante :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Dicotylédone
Ordre :	Rutales
Famille :	Rutacées
Genre :	<i>Citrus</i>
Espèce :	<i>Citrus paradisi</i> (Gupta et al, 2011)



Fig08 : fruit de pamplemousse

4-2-Historique

Découvert en Jamaïque vers 1800, le pamplemousse provient d'un croisement ancien entre le citron et le vrai *citrus grandis* d'Asie. C'est la Compagnie néerlandaise des Indes Occidentales qui embarqua "l'original" à bord de ses navires en direction de ses comptoirs dans les Antilles à la fin du XVIIe siècle. À cette époque, le fruit né de ce croisement était

absolument immangeable. C'était une curiosité botanique dont on présumait par contre de grandes propriétés médicinales (Raynaud.2008).

4-3- Description de fruit :

Sphérique comme un ballon avec les extrémités légèrement aplaties, généralement deux fois plus gros qu'une orange, bien jaune, le pamplemousse est de belle taille. Sa chair, croquante et juteuse, est divisée en 12 ou 13 quartiers et contient peu de pépins. Il a une saveur acidulée, légèrement astringente et plus ou moins sucrée (RAYNAUD. 2008).

Les pamplemousses sont des aliments à haute teneur en vitamine C qui constituent une bonne source d'inositol, un membre du complexe de vitamines B. C'est un fruit consommé au petit déjeuner, en salade ou sous forme de jus de fruit. (ENCARTA, 2009).

1-Huiles essentielles

1-1-Définition

Selon (FANNY, 2008). Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophage. Ces extraits contiennent en moyennes 20 à 60 composés qui sont pour plupart des molécules peu complexes (mono terpènes, sesquiterpènes,...etc.). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits des plantes.

1-2- Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement répandus dans les plantes avec des familles à haute teneur en matières odorantes comme les conifères, les myrtacées, les ombellifères, les labiacées, les rutacées, les géraniacées ...etc.

Ces huiles peuvent être stockées dans divers organes ; fleurs (rose, jasmin, origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorce (cassia, cannellier), bois (bois de rose, santal), racine (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane, citron) ou grains (carvi) (BRUNETON, 1993).

1-3- Le rôle des Huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Ces derniers ne sont pas essentiels pour la croissance des plantes (CROTEAU *et al*, 2000). Dernièrement, des études ont montré que dans les plantes, les huiles essentielles ont pour fonction d'attirer les insectes pollinisateurs ou repousser les insectes hostiles. Un certain nombre d'entre elles ont également des propriétés antiseptiques, insecticides, fongicides et bactéricides (CARSON et HAMMER, 2011).

1-4- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

1-4-1-Par pression à froid

Ce procédé s'applique aux huiles citronnées et agrumes (bergamote, citron, mandarine, orange...). Dans ce cas, les écorces ou zestes, sont tout simplement pressés par une machine de pression pour en recueillir les huiles (FRANCHOMME *et al*,1990).

1-4-2- Hydro distillation

C'est le procédé le plus ancien. La plante aromatique (entière ou broyée) placée dans un alambic immergée dans l'eau, il est préférable d'utiliser une eau sans chlore contenant un peu ou pas de calcium (eau de source, eau distillée). Porté à l'état vapeur en passant à travers le matériel végétal entraîne l'huile essentielle, elle est refroidie et condensée dans un serpentin.

L'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité dans une vase florentin. L'eau obtenue est une eau florale ou hydrolat aromatique. (RAYNAUD,2006)

1-4-3- L'expression au solvant volatil

Certaines H E ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être utilisé, C'est pourquoi on utilise les solvants. C'est une méthode très peu employée, elle représente 3% des cas. On met à macérer les fleurs ou les sommités fleuries dans du solvant, le plus souvent on utilise le benzène. Puis, on centrifuge pour récupérer l'HE. (SALLE, 1991).

1-4-4- Par enfleurage

Ce processus d'extraction, très sophistiqué, plus trop utilisé, est réservé aux huiles florales de très grande qualité. Les pétales fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse sur des châssis de verre et remplacés toutes les 24 heures, essentielles saturant progressivement la graisse.

Le composé obtenu, appelé « pommade », est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation, produit l'huile parfumée (DURAFFOURD *et al*, 1998).

1-5- Identification des huiles essentielles

Il existe de différentes méthodes pour identifier les composants d'une huile essentielle, parmi celle-ci la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G), chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), la spectrométrie de masse (M.S) et le couplage des deux technique (G.S-M.S)

1-6- Composition chimique des huiles essentielles

Les composés chimiques des huiles essentielles appartiennent à deux familles chimiques bien distinctes à savoir, les terpénoïdes et les composés aromatique dérivés du phénylpropane (BRUNETON, 1993).

1-7-Propriétés physico-chimique

De nous jour, les propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, d'aster...) sont exigées pour leurs évaluation commerciales.

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolore ou faiblement colorée (jaune pâle). Cependant, on rencontre quelques-unes d'entre elles qui sont respectivement colorées en rouge, vert et bleu.

La plupart d'entre elles sont plus légères que l'eau. Il existe toutefois des huiles plus lourdes comme par exemple les essences de cannelle et girofle.

Elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques usuels et les huiles grasses. Elles sont liposolubles et très peu soluble dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leur odeur. On parle alors d'eau aromatique. (BRUNETON ,1987)

1-8- Domaine d'application des huiles essentielles

1-8-1-En parfumerie :

C'est le débouché principal des huiles essentielles. L'industrie cosmétique et le secteur des produits hygiènes sont également des consommateurs, mêmes si le gout souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques.

1-8-2-En pharmacie :

Les huiles essentielles présentent des propriétés antiseptiques, digestives ou antispasmodiques et même sédatives. Il y en a aussi qui agissent sur le système nerveux central comme l'essence d'anis (calmante) et beaucoup d'entre elles favorisent la sécrétion du suc digestif (salive, liquide stomacal et intestinale et bile) et stimulent par conséquent l'appétit (HANS ,1977)

1-8-3-En industrie alimentaire :

Plusieurs segments alimentaires utilisent, à degrés divers, les huiles essentielles qui leur offrent un formidable potentiel de leurs notes aromatique dans un registre infiniment varié.

On les retrouve presque dans tous les secteurs alimentaire, boissons non alcoolisé, confiserie, produits laitiers, soupes, sauces, produits boulangerie, produit carnés,...etc. (RICHARD, 1992).

2- L'hydrolat

2-1- définition

L'hydrolat, qui est le condensé de la vapeur d'eau porteuse d'huile essentielle, a capté, en passant à travers les végétaux, les éléments hydrosolubles, tout en conservant en suspension une très petite partie de l'huile essentielle. (.....)

Les hydrolats ont des fonctions analogues à celles des infusions et des décoctions ; ils sont goûteux et concentrés. Cet hydrolat contient donc en petite quantité des composants plus ou moins identiques à ceux de l'huile essentielle (jusqu'à 5% de composés aromatiques selon la plante) plus des composants hydrosolubles. (BOSSON et DIETZ 2005)

2-2- propriétés des hydrolats

Elles sont assez proches de celles des huiles essentielles, avec deux différences de taille cependant :

- Les hydrolats, bien moins concentrés, sont bien plus faciles à utiliser en Automédication, aucun risque de se faire mal, c'est idéal pour les enfants ou les personnes fragiles.

- Les hydrolats s'utilisent en cure, ils n'ont pas d'action puissante par exemple, ils ne sont pas anti-infectieux, chaque hydrolat son rayon d'action. (Anne Dufour2007)

2-3- Utilisation

Selon les hydrolats ils peuvent t'être utilisés pour des états spécifiques (insomnies, peurs, toux, rhume, colère, douleurs diffuses, migraines, chagrin d'amour, acidité gastrique, angoisse de séparation, bavardage mental) (BOSSON et DIETZ, 2005).

1- Objectif

Le présent travail a pour objectif l'évaluation de l'efficacité insecticide des huiles essentielles d'écorces de pamplemousse (*Citrus paradisi*) et de citron (*Citrus limon*) et leurs hydrolats à l'égard du puceron noir (*Aphis fabae* L) ravageur de la fève (*Vicia faba*).

2- Matériel

2-1- Matériel végétal

-Les plantes étudiées sont : le citron (*Citrus limon*) et le pamplemousse (*Citrus paradisi*). (fig09)

-Les fruits de citron ont été récoltés durant les mois de mars 2014 au niveau de la région d'Ouled Slama, wilaya de Blida.

-Les fruits de pamplemousse ont été achetés au niveau de Bougera.

-Les écorces des deux fruits ont été nettoyées et séchées à l'ombre, à l'aire libre et à température ambiante. La durée de séchage a été de 12 à 15 jours.

-Les écorces ont été découpées en petits morceaux. (fig09)

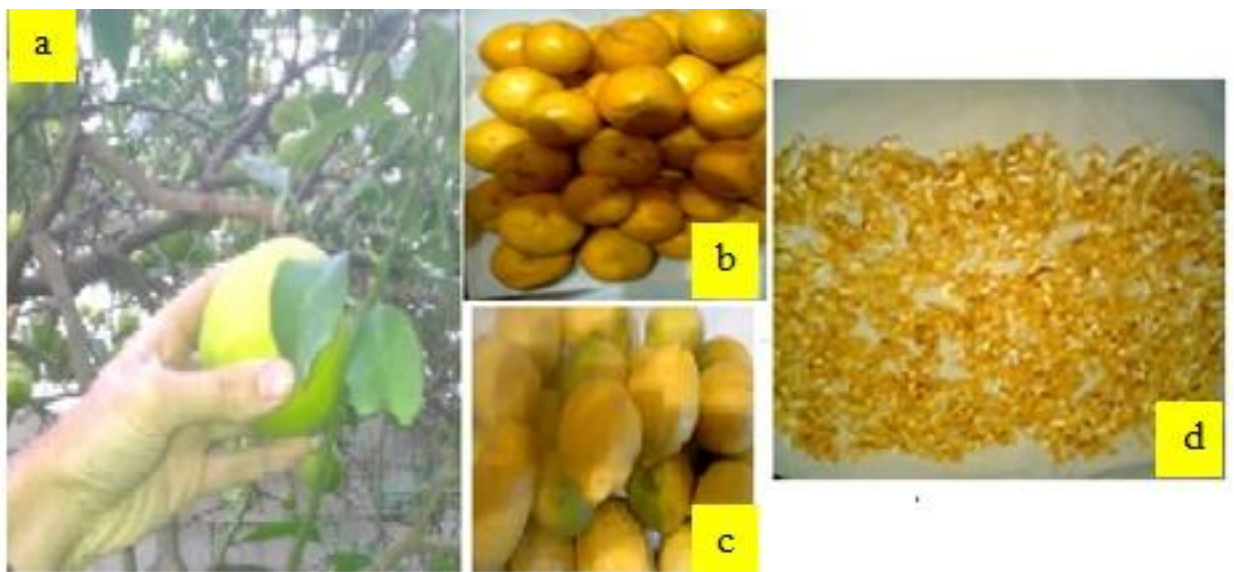


Figure 09: fruits de pamplemousse (a, b), fruits de citron (c) et les écorces (d)

2-2-Matériel animal :

- Le ravageur étudié est le puceron noir (*Aphis fabae*) de la fève (*Vicia faba*). (Fig10)

- La population des pucerons noirs utilisée a été récupérée de la parcelle située au département de biotechnologies, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Blida. (Fig10)

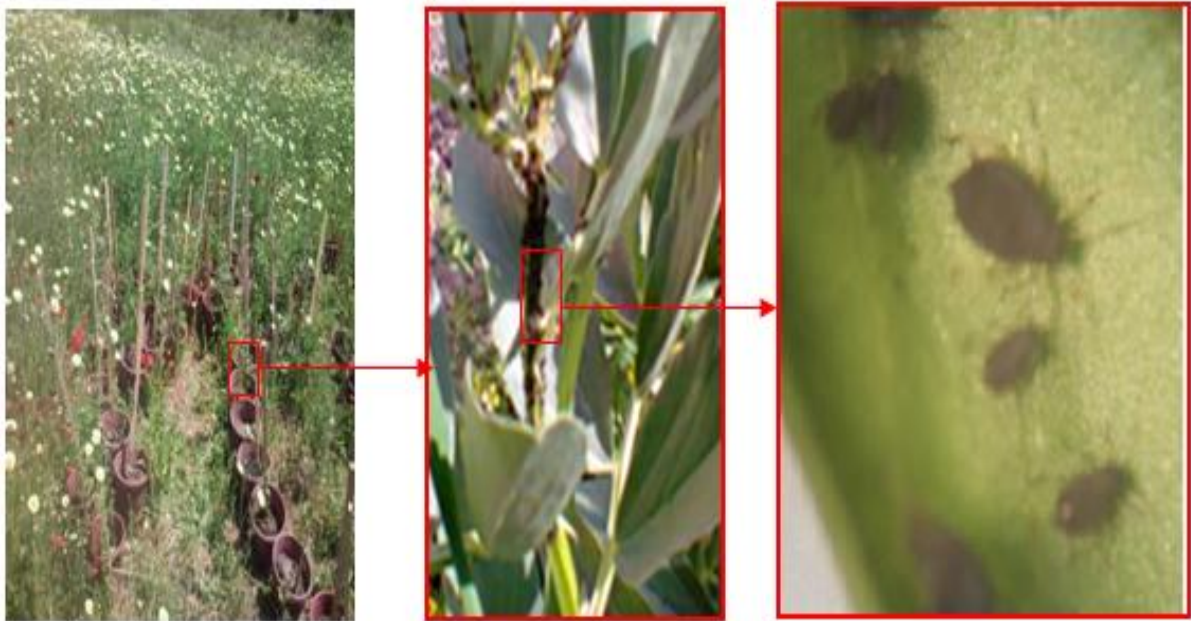


Figure 10 : Les pucerons noirs de la fève

2-3-Matériel de laboratoire

Les appareils, les réactifs et la verrerie utilisés pendant notre expérimentation sont représentés dans l'annexe 1.

3- Méthodes

3-1- Détermination de la teneur en eau

Pour déterminer la teneur en eau, nous avons effectué une dessiccation de la matière fraîche, qui nous a permis de déterminer la matière sèche par la pesée, après passage à l'étuve à 50°C pendant quelques jours jusqu'à la fixation du poids d'écorces séchées.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$MS(\%) = (PS / PF) * 100$$

Où :

- MS(%) : pourcentage de matière sèche ;
- PS : poids sec (g) ;
- PF : poids frais (g).

La teneur de l'eau est exprimée par la formule suivante (.....)

$$\text{La teneur en eau}\% = 100 - Ms\%$$

3-2- L'extraction des huiles essentielles et des hydrolats par hydro distillation

L'extraction des huiles essentielles du pamplemousse et du citron et leurs hydrolats ont été faite au niveau de laboratoire de recherche de plante médicinale et aromatique, Département de biotechnologie, université Saad Dahleb Blida.

3-2-1- Principe:

L'hydro distillation par un appareil de type *Clevenger* (Figure11), consiste à laisser baigner directement le végétal dans une enceinte (un ballon) d'eau, à qui les vapeurs, après chauffage à ébullition, entraînent au fur et à mesure des particules légères qui se condensent sur les parois plus froides (réfrigérant) du serpentín, ainsi ces essences (huile essentielle) seront séparés par différence de densité, et seront récupérés dans des ependorfs (BRUNETON, 1999).



Figure11 : Hydro distillation.

3-2-2- Mode opératoire

- Dans ce travail, l'extraction a été réalisée sur 40g d'écorce de pamplemousse ou d'écorce de citron dans 300ml d'eau ; qu'on a placé dans un ballon de 500ml, et que nous avons laissé bouillir durant 3 heures.

- A la fin, nous avons obtenu deux phases (hydrolat et l'huile essentielle) qui se sépare par une différence de densité.

-l'huile essentielle est récupérée dans des Ependorfs et l'hydrolat dans des flacons, le tous est couvert avec papier aluminium et conservées au réfrigérateur à 4°C.

3-2-3- Evaluation du rendement en huiles essentielles

Après avoir noté la quantité des huiles essentielles lues dans les graduations millimétriques de l'appareille d'hydro distillation utilisé, le rendement en huiles essentielles a été calculé par la formule suivante :

$$R = (V/M) \times 100$$

Où :

R : rendement d'huile essentielle en ml par apport à 100g de matière sèche ;

V : Volume d'huile essentielle en ml ;

M : poids de la matière végétal exprimé par apport à la matière sèche.

3-3- Réalisation de coupes histologique sur les écorces d'agrumes

Afin de connaître la structure histologique responsable de la sécrétion des huiles essentielles, des coupes transversales des péricarpes des fruits, ont été colorées selon la technique de double coloration (Bleu de méthyle et Rouge Congo) .

Cette technique comprend les étapes suivantes (fig12)

- réaliser des coupes très fines à l'aide d'une lame.
- mettre les coupes dans de l'eau de javel (pour vider les cellules) durant 10 à 15 mn puis les rincer environ 10 à 20 mn pour éliminer le surplus d'eau de javel .
- les remettre dans de l'acide acétique (pour rétablir le pH et assurer la fixation du colorant sur la paroi) durant 1 mn avant de les rincer pendant 10mn pour éliminer le surplus d'acide acétique .
- les laisser dans du bleu de méthyle (pour la coloration des parois lignifiées et/ou subérifiées). pendant 20 mn puis les rincer pendant 10mn pour éliminer l'excès de colorant.
- les mettre dans du rouge Congo (pour la coloration des parois pectocellulosiques) pour 5 mn avant de les rincer une dernière fois.
- enfin les disposer entre la lame et la lamelle pour les observer au microscope photonique.

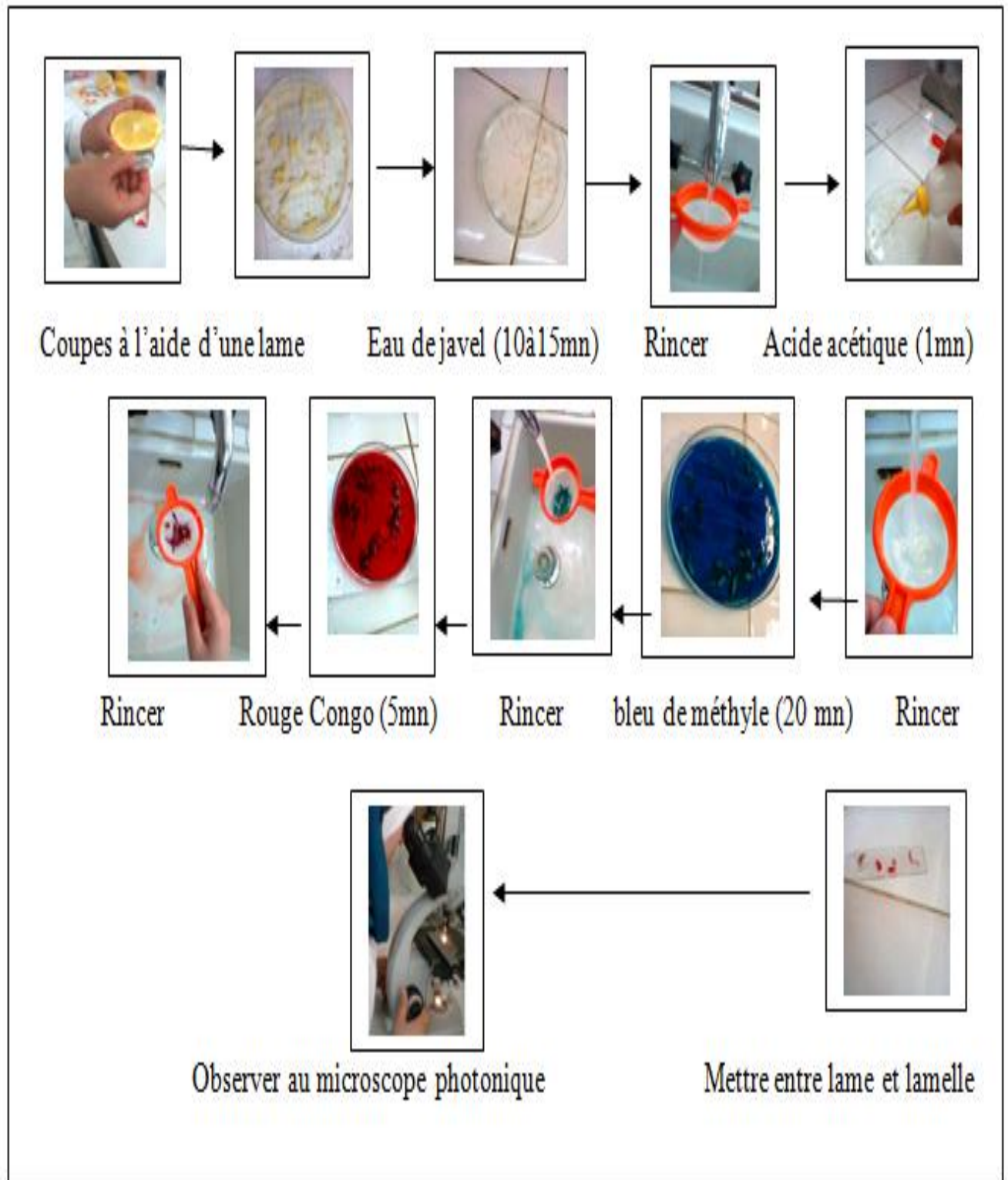


Figure 12 : Réalisation de coupes histologique

3-4 Caractérisation chimique des huiles essentielles et des les hydrolats

Les analyses chimiques ont été faites au niveau de laboratoire de recherche de plante médicinale et aromatique et au niveau de laboratoire de chimie à la Département de biotechnologie de l'université de Saad dahleb Blida.

3-4-1- Propriétés organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de l'huile essentielle ont été notées.

3-4-2- Propriétés chimiques

3-4-2-1- Indice d'acidité (NF EN ISO 660 ,1999)

Principe

La méthode titrimétrie est la mise en place d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis un titrage des acides libres à l'aide d'une solution éthanolique hydroxyde de potassium et en présence d'indicateur.

Mode opératoire

- Préparer dans un erlenmayer une solution d'oxyde diéthylique éthanol à 95% et prendre 2ml.
- Ajouter la solution préparée à la prise d'essai 0.2g.
- Ajouter quelques gouttes de phénolphtaleine (qui est un indicateur coloré).
- Titrer le KOH éthanolique (0,1N) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante (10 secondes) et noter la quantité de KOH utilisée indiquée sur la burette (V).

Expression des résultats

Indice d'acide

$$IA = \frac{56,1 * V * C}{m}$$

Où :

V : est le volume, en millilitre, de la solution titrée de KOH utilisée ;

m : est la masse, en grammes, de la prise essai ;

C : est la concentration exacte, en mole par litre, de la solution titrée de KOH utilisée ;

56,1 : est la masse molaire en gramme par mole de KOH.

3-4-2-2-Détermination de l'indice de réfraction (IR)

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence de réfraction d'un rayon lumineux, de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle (Afnor, 2000).

Mode opératoire et calcul :

Régler le réfractomètre en mesurant l'IR de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à une température de 20°C. Après ouverture du prisme secondaire, nous déposons 2 gouttes d'HE ou hydrolat sur la partie centrale du prisme principal. Enfin, nous fermons délicatement le prisme secondaire.

La lecture de la mesure s'effectue à une température stable, le calcul de l'IR, à la température de référence T, est donné par l'équation suivante :

$$\text{IR} = n_t + 0,0004(T - 20)$$

n_t : valeur de lecteur obtenue à la température t.

T : température en C° de l'échantillon.

3-4-2-3-Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR)

Principe

La spectroscopie infrarouge permet d'obtenir des informations sur les fonctions chimiques dans les molécules et permet ainsi de différencier les isomères.

Mode opératoire

* placer une goutte d'huile essentielle du citron ou du pamplemousse sur la pastille de KBr.

* puis placer la pastille dans le module conçu à cet effet.

* Mettre la pastille dans le spectre infrarouge.

3-5- Test d'efficacité des huiles essentielles et leurs hydrolats sur le puceron noir de la fève :

3-5-1-Préparation des doses :

3-5-1-1 Huiles essentielles

A partir de l'huile essentielle obtenue, nous choisissons trois concentrations à tester après dilution dans le tween 80 (dilué à 1%).

Nous utilisons le tween 80 comme témoin à cause de son activité insecticide nul et comme diluant pour former des microémulsions, donc l'homogénéisation de la solution de l'huile essentielle.

Les doses préparées sont les suivantes :

- Dose 1= D1 : 3% = 0,3ml HE+ 9,7ml d'eau distillée additionnée au tween.
- Dose 2= D2 : 2% =0, 2ml HE+ 9,8ml d'eau distillée additionnée au tween.
- Dose 3= D3 : 1% = 0,1ml HE + 9,9 d'eau distillée additionnée au tween.
- Témoin = Tween 80(dilué1%).

Les solutions obtenues ont été ensuite préservées aseptiquement dans des flacons protégés par du papier aluminium contre la lumière et conservés au réfrigérateur. Une agitation avant chaque traitement est effectué pour permettre l'homogénéisation de la solution.

3-5-1-2 -Hydrolat

A partir de l'hydrolat obtenu, nous choisissons trois concentrations à tester après dilution dans l'eau distillée.

Les doses préparées sont les suivantes :

- Dose 1= D1 : 100% = 10ml hydrolat
- Dose 2= D2 : 75% = 7,5ml hydrolat+ 2,5ml d'eau distillée
- Dose 3= D3 : 50% = 5 ml hydrolat + 5 ml d'eau distillée
- Témoin = l'eau distillée

Les solutions de l'hydrolat obtenues ont été aussi préservées dans des flacons protégés par du papier aluminium puis sont conservés au réfrigérateur ; et ils ont été agités avant chaque traitement pour permettre l'homogénéisation de la solution.

3-5-2-Application des traitements

A fin d'évaluer l'effet insecticide des différents traitements, nous réalisons des tests in-vitro, le mode d'action est le mode par contact et inhalation.

3-5-2-1-Par contact

Des individus de puceron noir avec feuilles ou tiges de la fève sont placés dans des boîtes de pétri (10cm de diamètre, de 2cm de hauteur et le couvercle est troué de façon à obtenir des petits trous) à raison d'environ 10 à 12 individus par boîte, ces pucerons sont pulvérisés par les différentes doses des HEs et des hydrolats. Pour chaque dose, 3 répétitions sont effectués. Après traitement, le comptage des pucerons noirs morts est effectué après 24h, 48h et 72h. (fig.13)



Figure 13 : Test par contact

3-5-2-2-Par inhalation

Une dose d'huile essentielle ou de l'hydrolat est déposée sur des disques de papier filtre, placée dans une boîte de pétri. Ensuite nous plaçons les individus de puceron noir et enfin nous couvrons avec le couvercle troué. Même application pour toutes les doses avec trois répétitions pour chaque dose.

Après traitement, le comptage des pucerons morts est effectué après 24h, 48h, 72h. (fig.14)



Figure 14: Test par inhalation

1- Teneur en eau :

L'écorce de pamplemousse renferme un pourcentage de 77% d'eau ; et l'écorce de citron renferme un pourcentage de 84% d'eau. Ce qui confirme les résultats de Paris et Moyes (1965) qui ont mentionné que les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment environ 60 à 80% d'eau. (Fig.15)

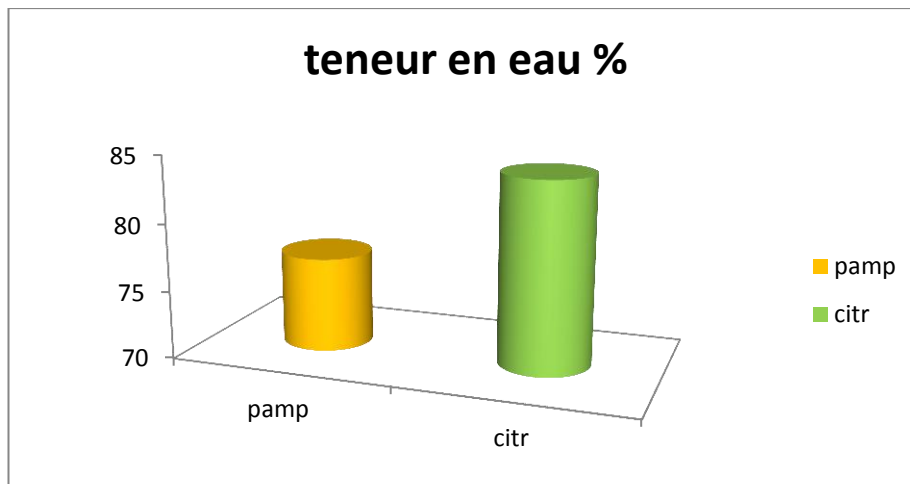


Figure 15: La teneur en eau des écorces du *C. limon* et du *C.paradisi*

2- Détermination du rendement des huiles essentielles du *C. limon* et du *C. Paradisi*

Les rendements des huiles essentielles du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* obtenu par hydro distillation sur 40g d'écorce sèche pendant 3heurs. Les résultats présentés dans la figure 16, et le tableau 05

Tableau05: Rendement des huiles essentielles du citron et du pamplemousse

Huiles essentielles	<i>Citrus limon</i>	<i>Citrus paradisi</i>
Rendement% (l/g)	2,3%	1,55%

Les résultats représentés sur la figure ci-dessous montrent que le rendement de l'huile essentielle du *citrus limon* étant de 2,30% est plus élevé que le rendement du *Citrus paradisi* qui est de 1,55%.

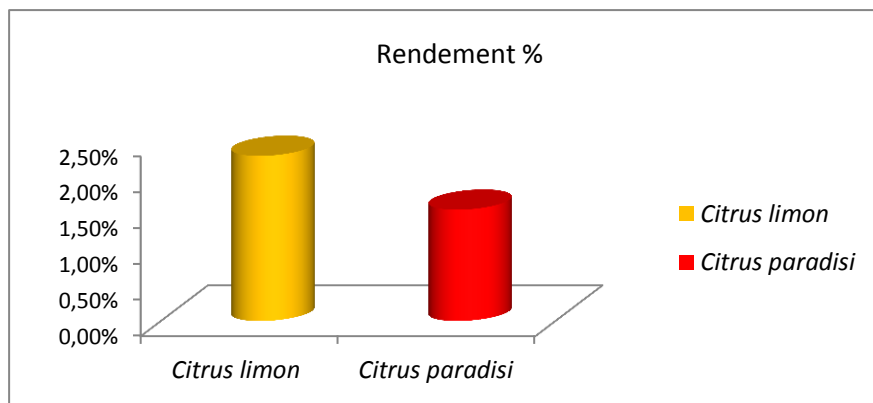


Figure 16: Rendement en huiles essentielles du *C. limon* et du *C. paradisi*

D'après REGA et *al* en 2003, les rendements en huiles essentielles chez les citrus diffèrent selon l'espèce et, ils ont signalé des rendements de 1% à 3%. Cette différence pourrait être expliquée selon (KELEN et TEPE, 2008 ; et VEKIARI et *al*, 2002) par le choix de la période de récolte, car elle est primordiale en termes de rendement et de qualité des huiles essentielles, le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée etc.

3- Etude histologique des écorces d'agrumes

3-1-Anatomique du péricarpe de pamplemousse

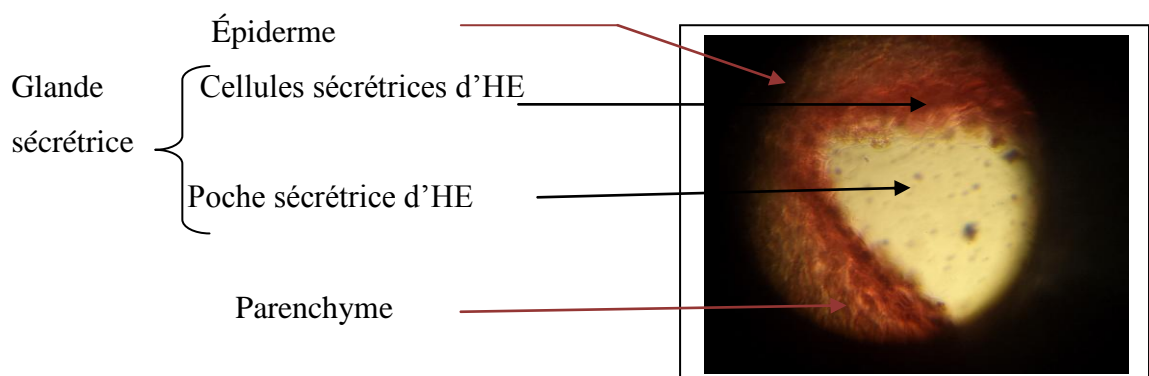


Figure 17 : Coupe transversale du péricarpe de pamplemousse observé au microscope optique G 100x

La coupe transversale du péricarpe du *citrus paradisi* (Fig.17) montre de l'extérieur vers l'intérieur ce qui suit :

- Epiderme
- Parenchyme
- Glande sécrétrice : poche sécrétrice entourée d'assises de cellules aussi dites sécrétrices.

3-2- Anatomique du péricarpe de citron

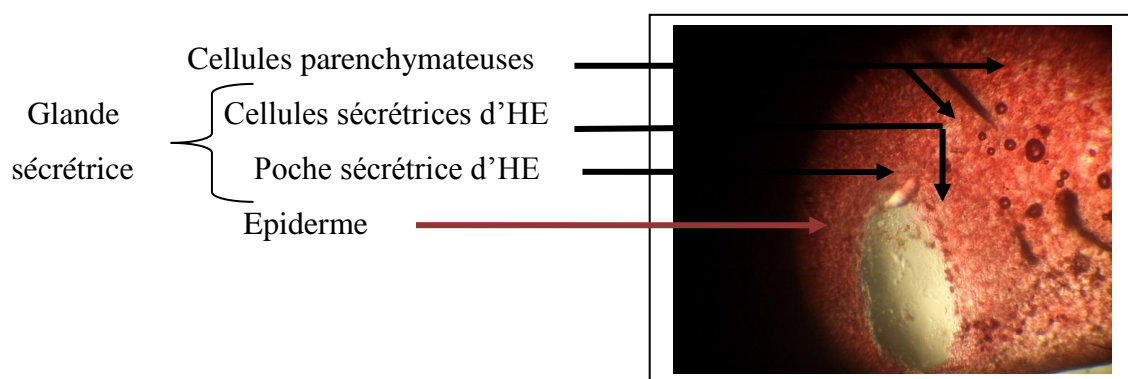


Figure18 : Coupe transversale du péricarpe de citron observé au microscope optique G 100x

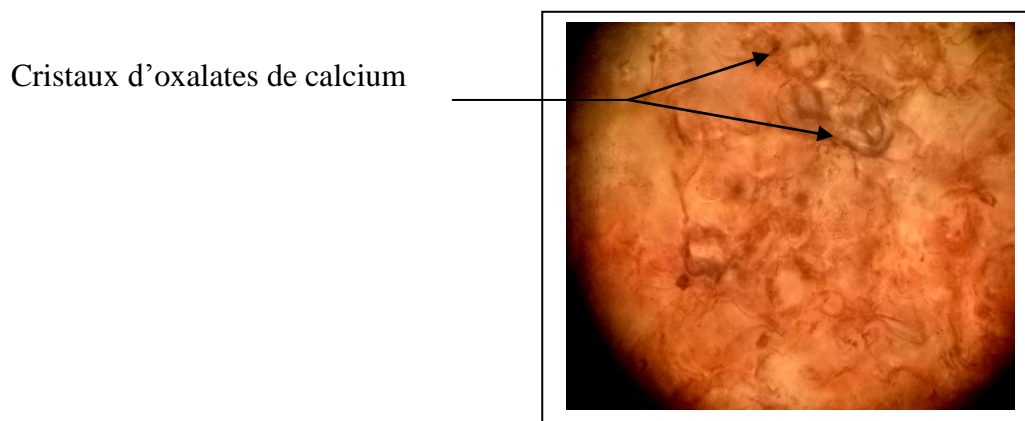


Figure19 : Cristaux d'oxalates de calcium observés au microscope optique à G100X.

La coupe transversale du péricarpe du *Citrus limon* (Fig.18) montre une structure similaire à celle du *Citrus Paradisi*, avec des cristaux d'oxalates de calcium en plus. (Fig.19).

4- Les caractéristiques organoleptiques

La caractérisation organoleptique des huiles essentielles du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* obtenues par hydro distillation est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 06: Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du citron et du pamplemousse

Espèces	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Citrus limon</i>	Liquide mobile	Incolore	Fort citronnée
<i>Citrus paradisi</i>	Liquide mobile	Jaune pâle	Agréable

Les huiles essentielles sont des substances caractérisées par une forte odeur aromatique liée à leur volatilité et sont généralement incolore ou faiblement colorée (jaune pâle) (BRUNETON ,1987). Nos huiles ont une couleur jaune pâle pour celle du pamplemousse et incolore pour celle de citronnier.

5- Détermination de l'indice d'acidité :

L'indice d'acidité des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi* est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 07: L'indice d'acidité des huiles essentielles et des hydrolats des deux agrumes.

Extrait	L'indice d'acidité
HE de pamplemousse	3,11
HE de citron	3,11
Hydrolat de pamplemousse	2,80
Hydrolat de citron	2,80

Les résultats représentés sur tableau précédent montrent que l'indice d'acidité d'HE du *Citrus limon* est le même que celui du *Citrus paradisi*, de même pour l'indice d'acidité des hydrolats des deux citrus.

6- Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction a été calculé à 24°C à l'aide d'un réfractomètre. Ils sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 08 : L'indice de réfraction des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi*

Extrait	Indice de réfraction
HE de pamplemousse	1,52
HE de citron	1,48
Hydrolat de pamplemousse	1,335
Hydrolat de citron	1,336

La valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle du citron (1,48) correspond à l'huile essentielle de l'orange selon normes d'AFNOR (1,4700- 1,4780). Elle est proche de la valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle du *Citrus aurantium* (1,46) qui a été rapportée par Drareni, (2013).

La valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle du pamplemousse est plus élevée que celle du citron. Par contre, les valeurs de l'indice de réfraction des hydrolats du citron (1,336) et du pamplemousse (1,335) correspondent à l'indice de réfraction du témoin (eau distillé (1,333)).

7- Détermination de la composition chimique des huiles essentielles par spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier (FTIR)

Le spectre de l'huile essentielle du citron nous donne 3 pics de très forte intensité à 2900cm⁻¹ (groupement Aldéhydes C-H) , 2260cm⁻¹ (groupement Nitriles C≡N) et 1400cm⁻¹ (groupement Amine C₁₆-N) par rapport a l'huile essentielle du pamplemousse qui sont de très faible intensité.¹ (Annexe2).

¹ - <http://www.sciences-edu.net/phisique/specamp/specamp.htm>

8- Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles et des hydrolats

Dans cette partie nous allons présenter les résultats relatifs à l'effet bio insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* sur le puceron noir *Aphis fabae* de la fève *Vicia faba*.

8-1- Evaluation de l'effet des huiles essentielles du *Citrus paradisi* et du *citrus limon* par inhalation et par contact

L'évaluation du taux de mortalité des pucerons noirs traitées par les huiles essentielles de pamplemousse et de citron par mode d'inhalation et par contact, est présentée dans les figures ci-dessous.(Annexe)

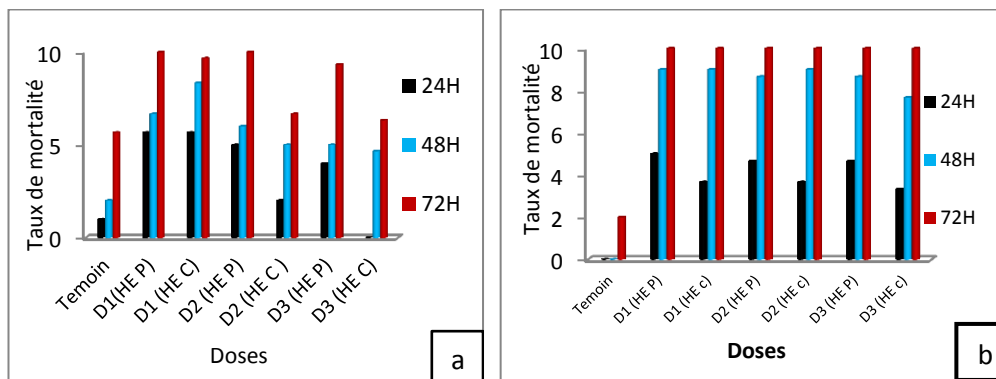


Figure 20: Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)

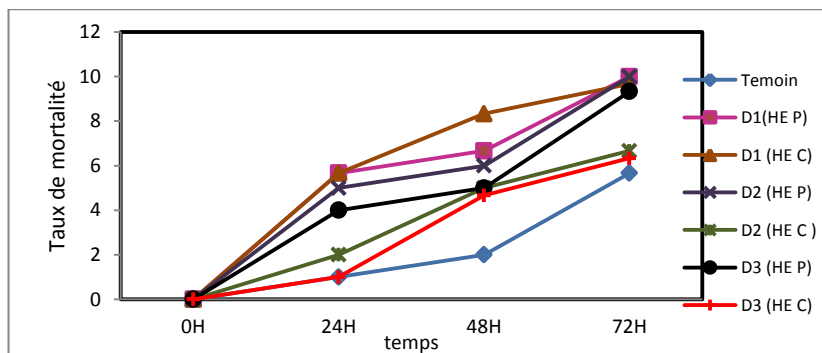


Figure 21: Taux temporelle de mortalité par inhalation

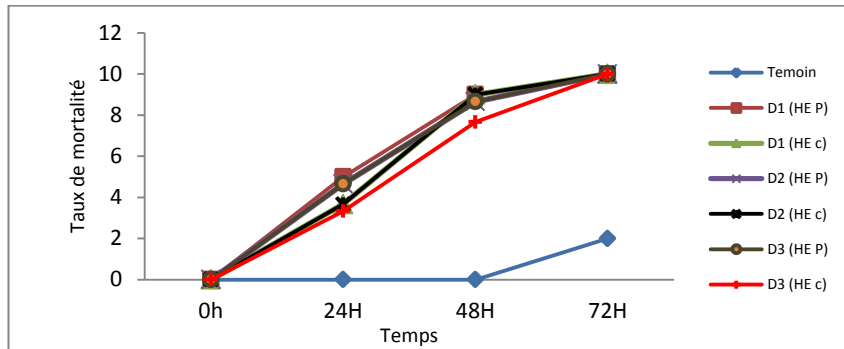


Figure 22 : Taux de mortalité par contact en fonction temps

D'après les figures 20, nous avons remarqué une activité insecticide décroissante selon les doses, de D1 (plus forte) à D3 (plus faible) des huiles essentielles des *C.paradisi* et *C.limon* sur le puceron noir *Aphis fabae*.

D'après les figure (21et 22), nous avons noté une mortalité des pucerons dès les premières 24h pour les deux huiles essentielles des *C.paradisi* et *C.limon* (par inhalation et par contact), cette efficacité augmente avec le temps (après 48h et après 72h).

Après le traitement par contact, nous avons remarqués qu'après 72h le taux de mortalités des pucerons est de 100% pour les trois doses de chaque huile essentielle.

En parallèle, nous avons observés l'apparition d'une faible mortalité des pucerons après 24h dans le témoin, cette mortalité est probablement due à un stress abiotique (climatique).

Les résultats représentés sur les figures ci-dessus montrent que, par mode d'inhalation, l'huile essentielle du *Citrus paradisi* est plus efficace que celle du *Citrus limon* ; et que le traitement par contact est plus efficace que par inhalation pour les huiles des deux *Citrus*.

8-2 Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* par inhalation et par contact

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance pour déterminer l'action de l'huiles essentielles du citron et du pamplemousse sur les pucerons noirs de la fève selon plusieurs facteurs (Mode, Extrait, Dose, Temps). Pour cela nous avons utilisé le modèle linéaire global (GLM), les résultats seront considérés significatives quant $p < 5\%$.

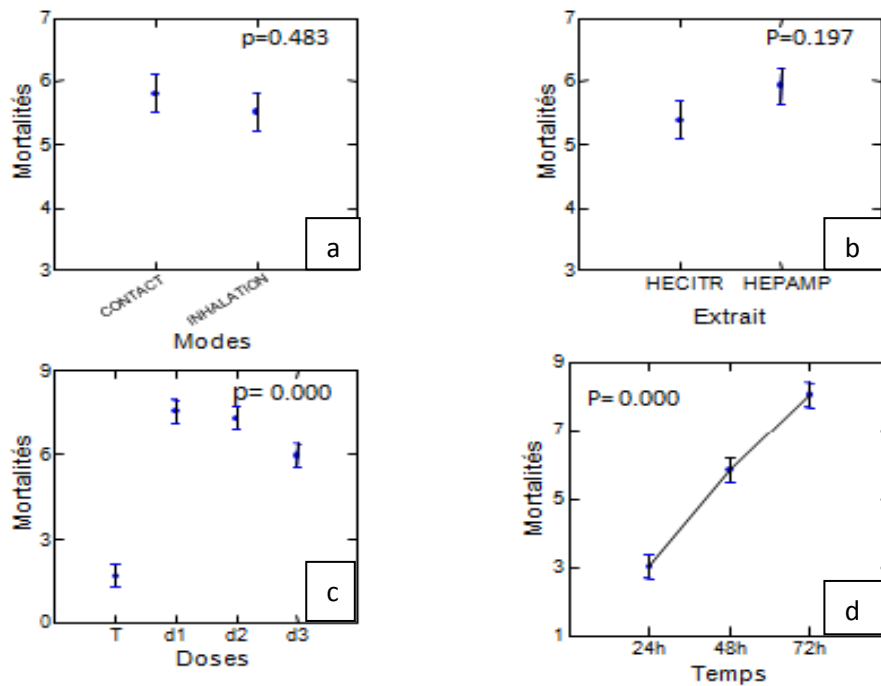


Figure 23: Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps).

Selon figure 23(a, b) l'huile essentielle de pamplemousse plus efficace avec traitement par contact. Et d'après figure 23(c), nous avons remarqué que la dose d1 semble être le meilleur traitement.

L'analyse de la variance (test GLM) sur la variation du taux de mortalité, révèle une différence non significative selon le mode de traitement (F- ratio=0,500, p=0,483), et selon le type d'extrait (F- ratio= 1.722, p=0,197).

Selon la dose, la différence est très hautement significative (F- ratio= 43.622, p=0,000), et de même selon le temps (F- ratio=49.394, p=0,000) (fig.23).(Annexe3) .

8-3- Evaluation de l'effet des hydrolats du Citrus paradisi et du Citrus limon par inhalation et par contact

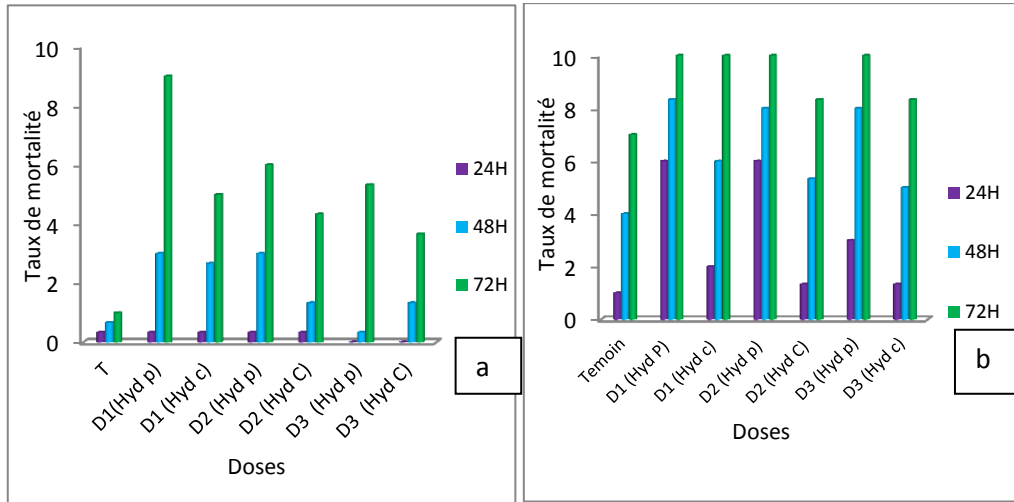


Figure 24: Taux de mortalité avec doses par inhalation(a), et par contact(b)

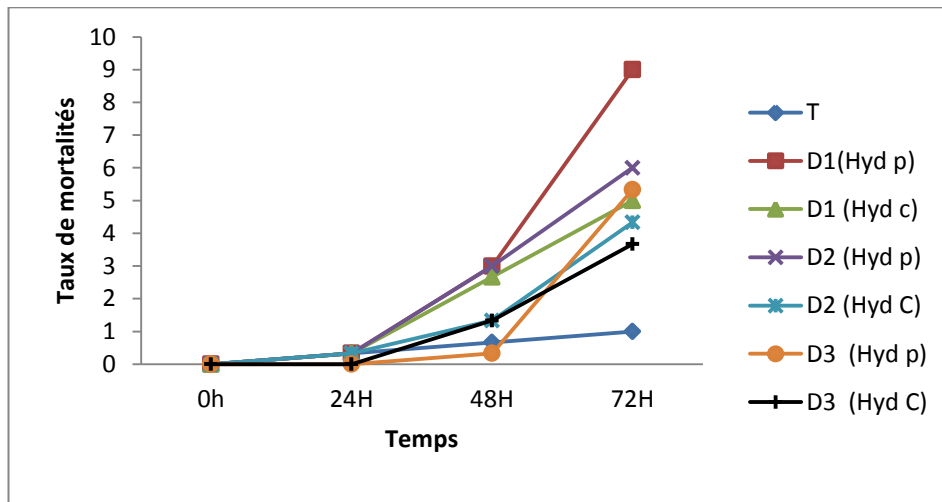


Figure 25: Taux temporelle de mortalité par inhalation

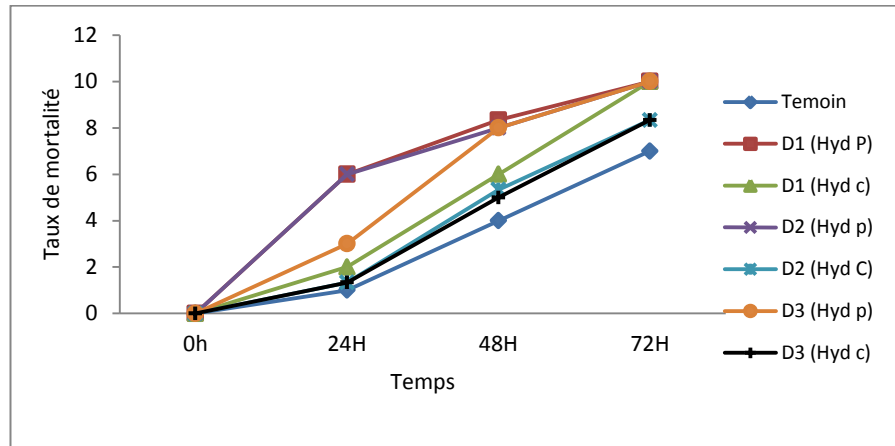


Figure 26 : Taux temporelle de mortalité par contact

D'après les figures (24, 25, 26), nous avons remarqué une efficacité décroissante selon les doses, de D1 (plus forte) à D3 (plus faible) ; et une efficacité croissante selon le temps (24h à 72h) des hydrolats du *C.paradisi* et *C.limon* sur le puceron noir *Aphis fabae* par mode d'inhalation et par contact.

En parallèle, nous avons observés que, par mode d'inhalation, l'hydrolat du *Citrus paradisi* est plus efficace que celle du *Citrus limon* ; et que le traitement par contact est plus efficace que par inhalation pour ces hydrolats.

8-4 Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des hydrolats du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* par inhalation et par contact

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance pour déterminer l'action de l'hydrolat du citron et celle du pamplemousse sur les pucerons noirs de la fève en plusieurs facteurs (Mode, Extrait, Dose, temps), nous avons utilisé le modèle linéaire global (GLM)

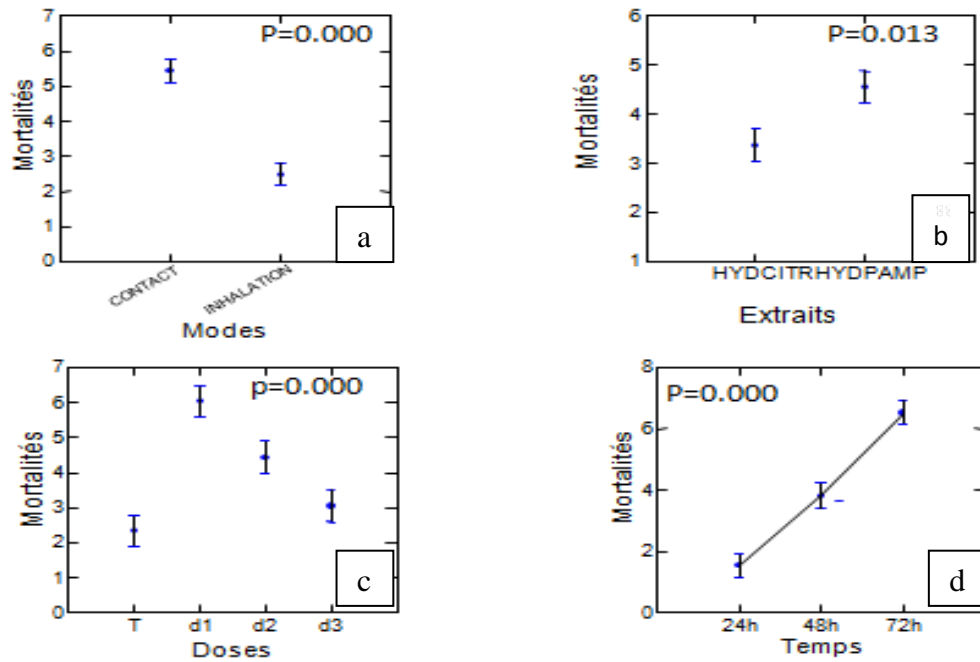


Figure 27: Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)

Selon figure 27(a, b) l'hydrolat de pamplemousse plus efficace avec traitement par contact. Et d'après figure 27(c), nous avons noté que la dose d1 la plus efficace.

L'analyse de la variance par le test (GLM) sur la variation du taux de mortalité, révèle une différence très hautement significative selon le mode (F- ratio= 41,214, $p=0,000$), selon les doses (F- ratio= 12.757, $p=0,000$), et selon les temps (F- ratio = 39.706, $p=0,000$). Par contre selon le type d'extrait, la différence est significative (F- ratio= 6.696, $p= 0.013$). (Fig.27).(Annexe3) .

8-5 Analyse statistique de l'évaluation de l'effet des huiles essentielles et des hydrolats du *Citrus paradisi* et du *Citrus limon* par inhalation et par contact.

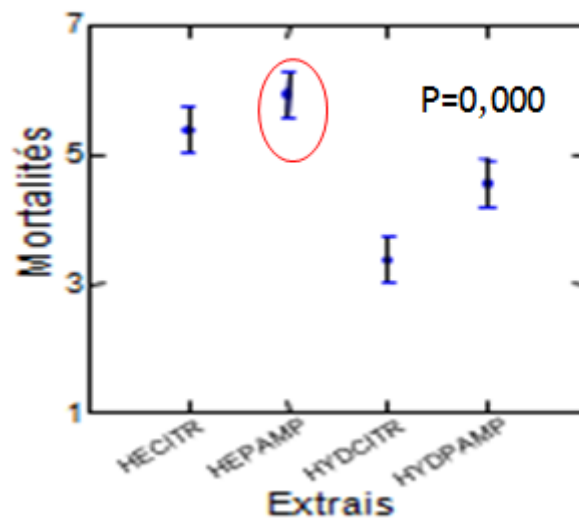


Figure 28: Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse).

D'après la figure ci-dessus, l'extrait ayant l'activité insecticide la plus efficace sur le puceron noir est celle de l'huile essentielle de pamplemousse par inhalation et par contact. Par ailleurs, l'huile essentielle a un effet plus important que l'hydrolat.

L'analyse de variance (test GLM) démontre une différence hautement significative ($p=0,000$) entre l'effet des quatre extraits.

Discussion

BADIS (2013), qui a travaillé sur l'effet biocide de l'huile essentielle des feuilles du *Citrus reticulata* à l'égard du *Tribolium castaneum* (*Ténébrionida*), a montré que l'huile essentielle du *Citrus reticulata* a un effet remarquable sur les larves des insectes traité, avec un effet décroissant selon les doses (dose pure (dp) à dose plus faible (d3)), et un effet croissant selon le temps (24h à 96h). Ces résultats sont rapprochés de nos résultats.

Par contre, DRARENI (2013), qui a travaillé sur la caractérisation chimique des huiles de fruit du *Citrus aurantium* et son action sur le bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (Coléoptère- Bruchidés), a mentionné que le taux de mortalité des bruches par test d'inhalation est plus élevé que par contact, ce qui ne concorde pas avec nos résultats.

Conclusion

Dans la perspective d'élaborer une méthode alternative à l'utilisation systématique des pesticides, notamment le recours aux biopesticides. L'effet biocide des huiles essentielles et des hydrolats de deux plantes aromatique et médicinales qui sont le citron et le pamplemousse sur la survie du puceron noir infestant les plants de la fève a été étudié.

Nous avons démontré à travers cette étude que les huiles essentielles et les hydrolats de deux agrumes testés ont un effet insecticide sur puceron noir. Il nous a été permis aussi de comparer l'effet de chaque plante avec l'autre.

L'effet insecticide des huiles essentielles et des hydrolats du citron et du pamplemousse sur les pucerons noir est très important, variant en fonction de l'extrait, du mode, des doses et du temps d'exposition.

Le taux de mortalité des pucerons noirs est observé à partir des premières 24h, et augment avec le temps jusqu'à 72h.

Selon les doses, l'activité insecticide est décroissante, de la dose la plus forte (d1=3%) à la dose la plus faible (d3=1%).

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle est plus toxique sur la population du puceron que l'hydrolat ; par ailleurs, l'huile essentielle de pamplemousse est plus efficace que celle du citron.

En parallèle, l'effet de traitement par mode de contact est plus élevé que par inhalation.

Perspectives

En perspective, il est judicieux d'approfondir l'étude sur :

- L'activité bio insecticide des plusieurs extrait (polyphénol, extrait aqueux ...etc.) des agrumes sur le puceron noir de la fève.

- Les activités biologique des huiles essentielles du citron et du pamplemousse pour pouvoir exploité dans le domaine pharmaceutique .

Annexe N° 1

Matériel non biologique

Appareillage	Verreries et autres	Réactifs et solution
Hydro-distillation.	Ballon de 500 ml	Tween 80
Etuve.	Micropipette	l'eau de javel
Réfractomètre.	Boites de pétrie	l'acide acétique
Agitateur.	Erlenmeyer	bleu de méthyle
Réfrigérateur.	étiquettes, stylo, feutre	rouge Congo
Balance.	Papier filtre	KOH éthanolique
Spectre IR.	Vaporisateur	diéthylique éthanol à 95%
Microscope optique	Ependorfs	phénolphtaleine
Loupe manuelle	papier aluminium	la burette
	Les flacons	l'eau distillée
	la lame et la lamelle	



Figure 29 : Balance analytique



Fig 30 : spectromètre Infra Rouge à Transformer de Fourier (FTIR)



Figure 31 : Réfractomètre



Figure 32 : Boites de pétrie



Figure 33 : Erlenmeyer

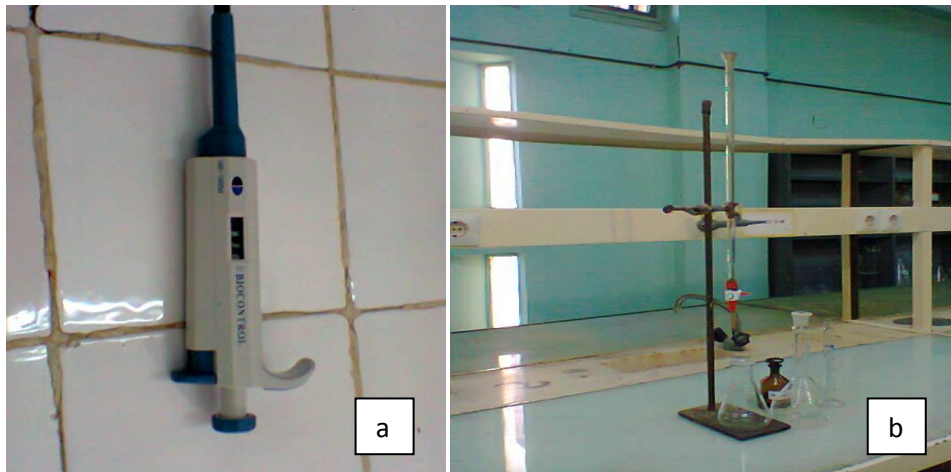
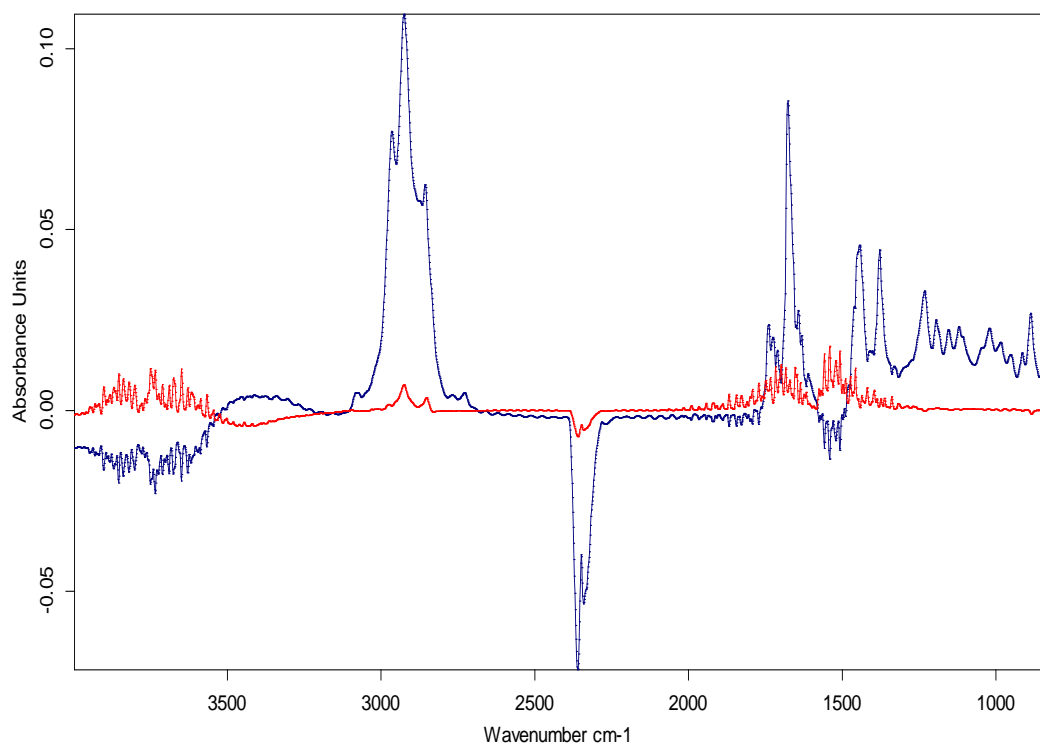


Figure 34 : micropipette (a) et burette (b)

Annexe N° 2



C:\RACHIDa 2014\H E P M.0	HE POMPELMOUSSE	absorbance	23/09/2014
C:\RACHIDa 2014\H E.0	H E CITRON	absorbance	23/09/2014

Seite 1 von 1

Figure 35 : spectre IR des huiles essentielles du *Citrus limon* et du *Citrus paradisi*

Annexe N° 3

Tableau 09 : Résultat de l'analyse de variance en modèle GLM de mortalités des pucerons par l'HE de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses et Temps).

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
MODES	1,018	1	1,018	0,500	0,483
EXTRAIT	3,505	1	3,505	1,722	0,197
DOSES	266,279	3	88,760	43,622	0,000
TEMPS	201,009	2	100,504	49,394	0,000

Tableau 10 : Résultat de l'analyse de variance modèle GLM de mortalités des pucerons par l'hydrolat de citron et de pamplemousse selon (Modes, Extraits, Doses, Temps)

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
MODES	103,136	1	103,136	41,214	0,000
EXTRAIT	16,756	1	16,756	6,696	0,013
DOSES	95,770	3	31,923	12,757	0,000
TEMPS	198,725	2	99,362	39,706	0,000

Tableau 11 : Résultat de l'analyse de la variance (GLM) pour la mortalité des pucerons selon le type d'extrait (HE, l'hydrolat de citron et de pamplemousse).

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
MODES	62,323	1	62,323	19,523	0,000
EXTRAIT	89,196	3	29,732	9,314	0,000
DOSES	312,117	3	104,039	32,591	0,000
TEMPS	398,448	2	199,224	62,408	0,000

- **AKROUM ,2006** .Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannin de Rosmarinus officinalis et Vicia faba L. Thèse magister ; Université Mentouri ; Constantine. P .P 06.24.
- **AMRANI 2009** ; Effet de la double inoculation Rhizobium-Champignons mycorhiziens sur la croissance de la féverole et du haricot nain ; Thèse magister ; Biotechnologie ; Université d’Oran Es-Sénia ; 19p
- **ANONYME 1985**.séminaire national sur les légumes secs . caractéristique . exigences et potentiel de production des différentes variétés de légumes secs . ITGC ; P15
- **ANONYME, 2006**. (Toute reproduction est soumise à l’autorisation de la DHHF et du CEHW - Crédit photographique : CEHW Avec l’appui technique de la F.R.E.D.E.C. Nord Pas de Calais Version en date du 17/03/2006 – Document téléchargeable sur www.walhorti.com rubrique Protection Biologique Intégrée).
- **ANONYME, 2009**. (La féverole, plante à ses utilisations).west-indies.fr - BR - Cr_dits Photos : UNIP, Arvalis .Source :www.prolea.com. p02.
- **AUSLOOS P., 2002**. huiles essentielles : un triangle corps-esprit émotion, ou comment l’aromathérapie s’affranchit de la dualité cartésienne.C. aromalve-conception ABC ceate- web,CNILE , n 806675, p 6.
- **BALACHOWSKY A.S ET MESNIL L ,1934**. les insectes nuisibles aux arbres fruitiers, à la vigne, aux graminées des prairies.Ed. Victor. Massé.T I.Paris.627p.
- **BARDEAU F., 1976** : La médecine par les fleurs, Editeur R Laffont, Paris .
- **BENNASSEUR, sd** ; Référentiel pour la Conduite Technique de la fève (Vicia

fabas) ; p 95.

- **BENOUELLA-KITOUS ; 2005** . Les pucerons des agrumes et leurs ennemis naturels à Oued-Aïssi (Tizi- Ouzou) . Thèse magister. Entomologie appliquée ; Institut National Agronomique d'el Harrach; Alger. p 7.
- **BOIVIN G ., 2001** . parasitoides et lutte biologique : paradigm ou pancée ; (www.document). URL [www.vatung uqam . Ca/ vol2/art8 vol2 n2 /guy biovin html](http://www.vatung.uqam.ca/vol2/art8_vol2_n2/guybiovin.html).
- **BOSSON L. et DIETZ G.** 2005 ; L'hydrolathérapie, thérapie des eaux florales. Ed Amyris, Bruxelles 2005.
- **BRUNETON J ; 1987.**Pharmacognosie, Photochimie, plantes médicinales, Ed technique et documentation. paris, p 585.
- **BRUNETON, 1999.** Pharmagognosie, phytochimie, plantesmédicinales, Edition technique et documentation, 3eme edition Lavoisier .Paris p 585
- **BRUNTON J ; 1993.**pharmacognosie, photochimie. Plantes médicinales Monoterpènes et sesquiterpènes : TEC et DOC ;3eme édition. Ed ;tec et Doc ;484p435
- **BRUNTON J ; 1993.** Pharmacognosie. phytochimie. Plantes médicinales. 2eme édition.Ed ; tec et Doc ; pp 484.435
- **Camille J., Dominique A.et Franck C., 2009;** Des agrumes pour CEVITAL (ALGERIE), Biha. p : 101.
- **Charles, Bernard P., Francis F.L.2000** cette physique phyoprotection Ed. INRA. PARIS p13
- **DAJOZ R., 2000.**éléments d'écologie .Ed. Bordas. Paris ; 5éme édition .540P

- **DUFOUR A. 2007** . Hydrolats : la face douce des huiles essentielles ; Phytothérapie . B.S. N° 100 - Novembre 2007. p 18

- **DURAFFOURD C ;LAPRAZ J.C et VALNET J ;1998** :ABC de la phytothérapie dans les maladies infectieuses-Ed Michel Grancher . France .157P

- **FANNY B .,2008** . effet Larvicide des huiles essentielles sur *stomoxys calcitrans* à la réunion. Thèse pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse. p 78.

- **FRANCHOMME., P ;PENOE L.D ,1990** : L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Ed.Roger Jollois – 445p

- **GRASSE P.P.**, 1951 - Traité de zoologie. Anatomie, Systématique, Insectes Supérieurs et Hémiptéroïdes. Ed. Masson et Cie, T. X, Fasc II, Paris, 1947 p.
- Gupta V., Kohli K., Ghaiye P., Bansal P., Lather A , 2011. pharmacological potentials of citrus paradisi- an overview. Review Article, international journal of phytotherapy research, p8

- **HAMDOUD N., 2012**. Effet du stress salin sur la croissance et la physiologie de la féverole (*Vicia faba* L.). Thèse magistère. Science Agronomique ; école nationale supérieure agronomique El-Harrach .Alger. P 06.

- **HANS F ; 1977**. Petite quide panoramique des herbes médicinales, 3eme edition DELACHAX et NIESTLE S.A. Ed Paris, 187p

- **HULLE M., TURPEAU E., LECLANT F. et RAHN M.J.**, 1998 . Les pucerons des arbres fruitiers. Cycles biologiques et activités de vol. Ed. Asso. coor. tech. Agri. (A.C.T.A.) et Inst. nati. rech. agro. (I.N.R.A.), Paris, p 77.

- **Hullé M., Turpeau-Aitighil É., Robert Y. et Monnet Y., 1999.** Les pucerons des plantes maraîchères. Cycles biologiques et activités de vol. Ed. ACTA, INRA, Paris. 136p.

- **INSTITUT TECHNIQUE DES CULTURES MARAICHÈRES ET INDUSTRIELLES, 2010.** Fiches techniques valorisées des cultures maraîchères et Industrielles. La culture de feve. p02.

- **LAROUSSE , 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales .1. édition. HONG KONG VOL335. P 190

- **Le Bohec J., Robert Y., Grousseau C. et Robic R., 1981.** Les pucerons de l'artichaut. Étude particulière de *Capitophorus horni* Börner et d'*Aphis fabae* Scop. En Bretagne. In : Bernard H., journées d'études et d'informations. Les pucerons des cultures. Paris-2, 3 et 4 Mars. Ed. ACTA. 350p.

- **KELLEN et TEPE B.2008.** Chemical composition antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of the salvia species p 99.

- **LECLANT F., 1999.** Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification. I- Grandes cultures. Ed. ACTA, INRA. Paris. p 64.

- **LECLANT, F.1996.** Dégâts et identification des pucerons. PHM Revue Horticole, n° 369, pp.19-24.

- **LESLYE B., 2005.** Plantes aromatique et médicinales .1.production. paris. Vol 306. P 46.

- **LIETTE L ,2005.** Les pucerons dans les légumes de serre : des bêtes de sève. Ed Québec Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation Montégie. P 7.

- **LOUSSERT R ,1989.** Les agrumes. 2. Production. Lavoisier, Paris. p 157

- **LOUSSERT R., 1989 B** : Les agrumes 1, Arboriculture, Edit. Lavoisier, Paris. p113.
- **MARC 2004** ; les pucerons ; Dossier technique n°2. Conception et réduction par asbl Adalia .p02.
- **MERADSI ,2009** . Contribution à l'étude de la résistance naturelle de la fève *Vicia faba* L. au puceron noir *Aphis fabae* Scopoli, 1763(Homoptera: Aphididae) ; Thèse magister ; Entomologie agricole et forestière ; Université El-Hadj Lakhdar – Batna ; p, p 8.9.
- **MEZANI 2011**.Bio écologie du bruche de la fève bréclus ruimanus Boh (coleoptera bruchidae) dans des parcelles des variétés de fèves différentes et de féverole dans la région de Tizi Rached (Tizi –Ouizou).Thèse magister. science biologique.université Mouloud Mammeri .Tizi- Ouizo. P 06
- **Moule, 1972** : plantes sarctees et diverses , la maison rustique. Paris p01.
- **Raynaud,2008** ; la carte d'identité du pamplemousse ; Sources : Saveurs du Monde. <http://www.saveursdumonde.net/> . Dessins Clipart.
- **NOUIOUA ; 2012**. biodiversite et ressources phytogenetiques d'un ecosysteme forestier « *Paeonia mascula* (L.) Mill. ». Thèse magister. Biodiversité et gestion des écosystèmes universit FERHAT ABBAS – SETIF. p 22.
- **POLESE J-M., 2005** : La culture des agrumes, édition Artémis, Paris, 93p.
- **Polèse J-M., 2008** : La culture des agrumes, 2ème édition Artémis, Paris, p 93.
- **RAYNAUD J ., 2006**.prescription et conseil en aroma thérapie,Ed médicales internationales, 247p

- **REDACTION P. JAMONNEAU, N. LECAT ET P. JOUGLAIN2002.** L a feverole en agriculture biologique .Conception : CRAA • Impression : Imprimerie de La Roque Crédit photos : Union Agribio (N. Lecat) • Date).
- **REGAB, FOURNIER et RUSSELL,2003.** Citrus flaveur,journal of agricultural .p133
- **REMAUDIERE G. et REMAUDIERE M., 1997** - Catalogue des Aphididae du monde. Of the World's Aphididae ; Homoptera. Aphidoïdae. Ed. Inst. nati. rech. agro, Paris,473 p.
- **RICHARD, 1992** : les aromes alimentaire Ed, Lavoisier, paris.538p (science et technique agroalimentaire).
- **SALLE J .,** 1991. les huiles essentielles synthèse de l'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed Frison-roche. Paris. P16, 18,19 ,23
-