

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**



**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

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

**Spécialité : Phytopharmacie et protection des végétaux**

## **Thème**

**Etude de l'effet sublétal des huiles essentielles  
extraites des citrus sur un coccinalidea aphidiphage**

**Présenté Par :  
Fenniche Imane et  
Guicheniti Fettouma**

**Devant le jury composé de :**

<b>Mme Baba Aissa K.</b>	<b>MAA</b>	<b>U.S.D.B</b>	<b>Présidente de jury</b>
<b>Mme Brahimi L.</b>	<b>MCB</b>	<b>U.S.D.B</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme Allal L.</b>	<b>Pr</b>	<b>U.S.D.B</b>	<b>Promotrice</b>

**Année universitaire 2018-2019**

# REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions **Dieu** de nous avoir donné la force, le courage, la patience et la chance d'étudier et de suivre de chemin de la science.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre promotrice Mme ALLEL L., pour sa précieuse aide, ses encouragements, ces conseils, et son suivi tout au long de la réalisation de ce mémoire. Aussi pour sa grande patience, ses encouragements, ses orientations et ses conseils précieux.

Mme BABA AISSA K., nous a fait l'honneur de bien vouloir accepter de présider notre jury. Qu'il trouve ici l'expression de nos respectueuses gratitude.

Nous voudrions également exprimer nos vifs remerciements à Mme BRAHIMI L., d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous tenons à remercier particulièrement Mme DJEMAI A. qui nous a toujours encouragé et aidé pendant toute la période de notre travail, et pour son aide, son soutien moral et sa compréhension.

Nous remercions notre famille pour leurs aides durant nos études et leurs soutiens.

Nos remerciements vont à : Toutes les personnes du Laboratoire du Département pour leur aide et leur amitié.

Nous remercions nos collègues de la spécialité de : Phytopharmacie et protection des végétaux (Master 2).

Nos remerciements vont également à tous qui ont participé de près ou de loin pour que nous arrivions à ce merveilleux instant

# DEDICACE

**Je dédie ce modeste travail, mes chers parents (MALIKA ET REDOUANE) en témoignage de l'amour, du respect et de l'éternelle gratitude que je leurs porte et ma reconnaissance pour leur soutien je ne les remercierai jamais assez, pour tout ce qu'ils m'ont fait.**

- ♥ A mes grandes mères.
- ♥ A mon grand-père.
- ♥ A mon agréable et aimable sœur :Radia
- ♥ A ma nièce et mon neveu : Nihel et Loay
- ♥ A mes chers frères : Amine, Sid Ahmed et Youcef.
- ♥ A mes tantes et mes oncles.
- ♥ A tous mes cousins et mes cousines.
- ♥ A mes chers amis : Fati, Khouloud, Ahlem, Hasnaa, Selma.
- ♥ **A tous mes collègues de l'option phytopharmacie et protection des végétaux.**

**A tous la famille Fenniche**

**Et enfin à tous mes amis et mes collègues de l'U.Blida 1 et toutes les personnes qui me connaissent de près ou de loin.**

**Imane**

# DEDICACE

## Je dédie ce modeste travail :

- ♥ A ma très chère mère **Fatmazohra**, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.
- ♥ A la mémoire de mon Père **Salim**, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.
- ♥ A mon marie **Fouad**, Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin. Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises. Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour. Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.
- ♥ A ma chère belle-mère **Djamila** et mon beau père **Abdelkade Mohamed**.
- ♥ A mon agréable et aimable sœur : **Lamia, Chaima et ma nièce Ibtihel**.
- ♥ A mes chers frères : **Rachid, Mohamed, Maamer et Saber**.
- ♥ A ma belle sœur **Wafa** et beau-frère **Hamide**.
- ♥ A tout la famille **Guicheniti et Dahou** .
- ♥ A mes chers amis : **Imane, Khouloud, Ahlem, Selma, Chaima, Sabah**.
- ♥ A tous mes collègues de l'option **phytopharmacie et protection des végétaux**. Et enfin à tous mes amis et mes collègues de l'**U. Blida 1** et toutes les personnes qui me connaissent de près ou de loin.

Fettouma

## 2.1. Rappel sur les objectifs de l'étude

L'objectif de notre travail a été d'évaluer l'effet des huiles essentielles extraites des zestes de deux espèces d'agrumes (le citronnier variété Eureka et l'oranger variété Valencia Late) sur le comportement d'un coccinellidaeaphidiphage. Les huiles essentielles étant en général toxiques à l'état pur, nous nous sommes posé la question de savoir si de faibles doses administrées aux individus adultes ou à des larves âgées peuvent induire un effet subléthal après une perturbation du comportement des individus pendant un temps d'exposition connu, en comparaison avec des individus non traités. Nous émettons les hypothèses suivantes :

1-l'effet subléthal serait accentué en fonction des concentrations et des doses utilisées.

2-l'effet subléthal dépendrait du temps d'exposition et du type de contact (direct ou indirect) avec les solutions huileuses.

A cet effet, les différents tests ont été réalisés dans les conditions de laboratoire sur les durées de développement des larves ainsi que sur le nombre et la taille des pontes.

## 2.2. Présentation de la zone d'étude

L'essentiel du présent travail, précisément les récoltes du matériel végétal et du matériel botanique, a été effectué dans la wilaya de Blida au niveau de l'atlas tellien central entre les zones de Soumâa, Bougara, et Ouled Slama qui se situent au sud est par rapport au chef-lieu. Cette zone est à vocation agrumicole par excellence avec un taux de 56% de la superficie agricole utile (SAU) de Blida, soit plus de 17.000 ha. Un taux de 61% de la surface agrumicole de la wilaya est concentré dans sa partie Centre, soit Boufarik, Oued El-Alleug, Chebli et Ben Khelil, connues pour la fertilité et la qualité de leur sol. L'agrumiculture est aussi pratiquée à hauteur de 23% dans la zone ouest de Blida (Mouzaïa et El-Affroun) et à 19% dans les communes de Meftah, Larbaâ et Bougara, (Source [www.lemidi-dz.com](http://www.lemidi-dz.com)).

Le verger choisi dans la localité de Bougara s'étend sur une superficie de 1.3 Ha. Il se trouve au niveau de l'Institut National Spécialisé en Formation Professionnelle de Bougara (I.N.S.F.P), qui se situe à 25 Km du chef-lieu de la wilaya de Blida. Il regroupe environ 330 arbres d'orangers âgés de 7 ans de différentes variétés greffés sur Bigaradier. Le verger de citronnier de Ouled Slama appartient à un exploitant privé tandis que le verger de Soumâa se trouve au niveau de la station expérimentale de l'Université de Blida.

La zone d'étude se distribue dans l'étage subhumide à hiver doux, elle est soumise à un climat de type méditerranéen. Néanmoins, entre les mois de février à juin de l'année d'étude 2019, nous avons assisté à une variation accentuée des températures et de la pluviométrie pendant la période printanière estivale. Cette dernière a été caractérisée par une alternance de périodes très courtes d'augmentation et de diminution brusque des températures de saison accompagnée de pluies orageuses, notamment en avril.

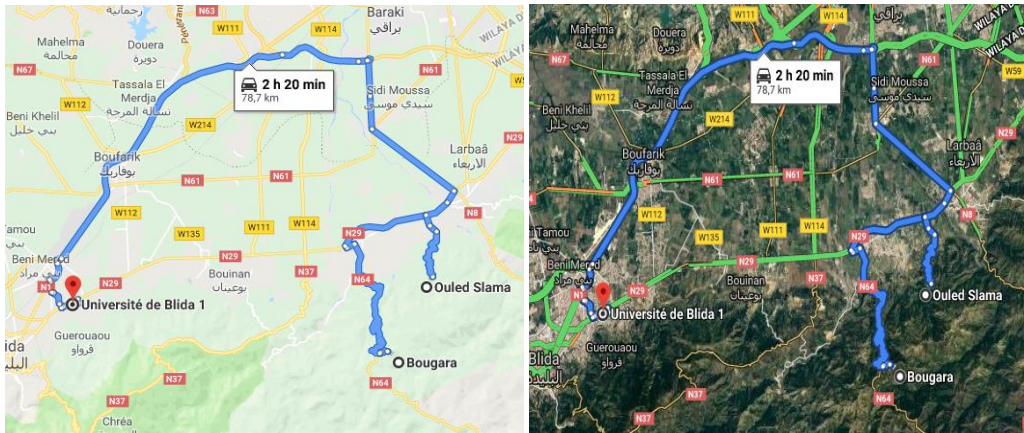


Fig.10 : Les trois stations d'études sur Google Maps (Anonyme, 2019).

### 2.3. Méthodologie utilisée sur le terrain pour la récolte des coccinelles

La récolte des coccinelles a été faite durant le mois de mars au niveau du verger de Bougara et au niveau de différentes strates végétales de la faculté SNV à l'université Saad Dahlebde Blida.

Les insectes ont été échantillonnés en utilisant la chasse à vue et le parapluie japonais, sont les méthodes choisies dans toutes les stations et toutes les strates de la végétation. Il est recommandé dans ces méthodes d'éviter les jours de vents.

#### 2.3.1. Chasse à vue classique

Cette méthode consiste à échantillonner à vue plusieurs fois par semaine les coccinelles aphidiphages rencontrées aléatoirement soit au niveau du sol, dans la strate herbacée ou arborescente. La récolte s'étale durant toute la période allant du mois de mars 2019 au mois de Mai 2019. Les individus récoltés à différents stades de développement sont mis dans des flacons sur lesquels sont mentionnés la date et le stade de développement (figure 10).



Fig.11 : La récolte des coccinelles par la méthode de chasse à vue (original, 2019).

### 2.3.2. Le parapluie japonais

Le parapluie japonais (figure 11) sert à capturer les insectes ou autres arthropodes qui vivent sur les branches des arbres et qui sont le plus souvent cachés à la vue par la végétation. Les espèces ciblées sont des chenilles, des punaises, des coléoptères, des perce-oreilles, des araignées, etc.



**Fig.12:** La récolte des coccinelles par la méthode du parapluie japonais

Le nombre total de récoltes des coccinelles est résumé comme suit : Deux espèces sont prises en considération (*Adoniavariegata* et *Coccinellaalgerica*). (Tableau 5)

**Tableau 5 :** les dates de la récolte des coccinelles.

Date de récolte	Nombre de coccinelles récoltés (tout stade confondu)	Lieu de récolte
21-03-2019	50	Vergers de Bougara (INFSP)
15-04-2019	7	Bougara (INFSP)
13-05-2019	13	Bougara (INFSP)
03-06-2019	30	Saad Dahleb Blida (station expérimentale et arbustes d'ornement au niveau de la faculté)

### 2.4. Méthodologies adoptées au laboratoire:

Les coccinelles aphidiphages récoltées de terrain à différents stades ont été mises en élevage dans des boîtes de pétri au niveau de laboratoire de zoologie. La descendance obtenue a fait l'objet des différents essais de traitements à base des solutions d'huiles préalablement formulées. Les coccinelles utilisées proviennent en totalité de récoltes réalisées dans les vergers d'agrumes et à partir de diverses plantes herbacées spontanées et arbustives notamment le laurier rose.

#### 2.4.1. Elevage des coccinelles au laboratoire :

L'élevage de *C. algerica* a été réalisé au niveau de laboratoire de zoologie du département des Biotechnologies de la Faculté des Sciences de la Nature et de la

Vie (Université de Blida1). Dans un premier temps, les coccinelles au nombre d'une cinquantaine d'individus sont mis en masse dans une boîte en plastique avec une alimentation aphidienne et des fleurs fraîchement récoltées pour assurer un complément nutritif à base du pollen. Puis, les couples de coccinelles obtenus ont été répartis dans des flacons en polystyrène étanche de 5.5 cm diamètre, dotés d'un bouchon de fermeture rapide avec des petits trous pour la ventilation (figure 12), à raison d'un couple de coccinelles par flacon.

Dans chaque flacon, une quantité suffisante en pucerons est ajoutée quotidiennement pour stimuler les accouplements et les pontes. Au bout de 3-4 jours, les mâles sont retirés puis dès l'obtention des pontes, les œufs sont transférés délicatement à l'aide d'un pinceau fin, vers d'autres boîtes de pétri afin de permettre l'éclosion des larves. Les jeunes larves nouvellement écloses sont recueillies individuellement dans d'autres boîtes de pétri (figure 13). Chaque larve est observée durant tout le temps de sa croissance pré-imaginale en présence d'une abondante nourriture (pucerons seulement) pour évaluer les durées des différents stades de développement.



**Fig.13** : Flacons en polystyrène utilisés pour la collecte des coccinelles (original, 2019).



**Fig.14** : Elevage des coccinelles dans les boîtes de pétri et les flacons (original, 2019).

Les coccinelles *C. algerica* ont été alimentées chaque jour de pucerons verts des agrumes en introduisant des feuilles d'agrumes infestées et fraîchement prélevées



soit du verger expérimental d'agrumes du département des biotechnologies soit du verger d'agrumes de l'INSFP de Bougara.

Ainsi, nous observons pour chaque différent stade de développement de l'œuf à l'adulte le nombre de mues larvaires des 4 stades ainsi que les durées (en jours) de chaque stade biologique dans les conditions de laboratoire.

Pendant toute la durée de l'élevage, les individus de coccinelles consomment des pucerons pour assurer leur croissance. Lorsque les larves muent au stade L3, nous avons appliqué le traitement à base des solutions d'huiles essentielles formulées pour étudier leur effet sur la croissance des larves. Les adultes de la 1<sup>ère</sup> descendance ont servi aux tests de fécondité ainsi qu'au test de répulsion. D'autres individus adultes ont été utilisés pour estimer la toxicité des deux huiles essentielles utilisées

#### **2.4.2. Méthodologie d'extraction des huiles essentielles**

Les fruits d'oranger et de citronnier ont été récoltés au stade de maturation au niveau du verger d'OuledSlama (figure 14) au mois de mars et mai 2019, respectivement. L'extraction des huiles essentielles a été faite à partir des zestes à l'état frais dans les 3 jours qui suivent la récolte des fruits.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'éthanol puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction.

L'hydrodistillation ou entraînement à la vapeur, est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de matériel végétal dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient.



**Fig.15** : Récolte des fruits d'agrumes du verger de OuledSlama (Blida) (original, 2019).

Les fruits ont été d'abord soigneusement lavés pour les débarrasser de la poussière. L'huile essentielle est contenue dans l'écorce, donc on commence par peler les fruits de citron et d'orange pour ne récupérer que l'écorce.

On coupe l'écorce en petits morceaux afin d'en obtenir des zestes. On dispose le tout dans un ballon à raison de 100 g de matériel végétal frais et 700 ml d'eau distillée. Cet ensemble est porté à ébullition suivant un dispositif d'extraction pendant une heure et 30 minutes et les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau (figure 15 a à d).

Après condensation et liquéfaction, l'huile surmontant l'eau est séparée de l'eau, puis séchée par congélation. Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre fumé.

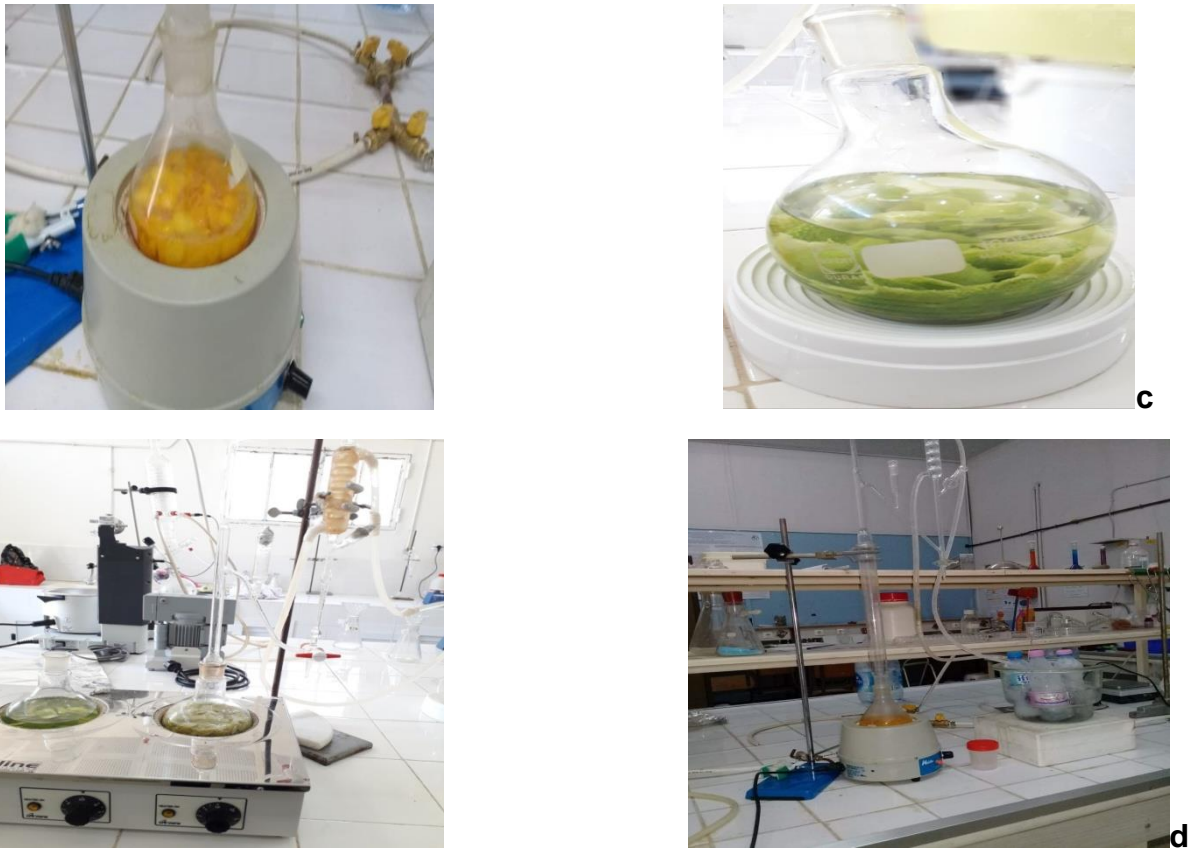
Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé à 5°C au réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologiques.



a



b



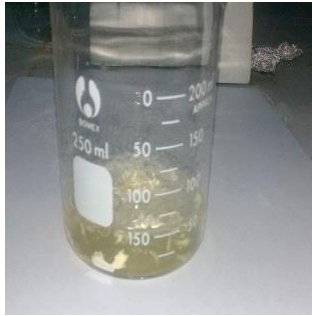
**Fig. 16:** Etapes d'extraction des huiles essentielles étudiées (original, 2019).

### 2.4.3. Essai de formulation de l'huile essentielle d'oranger par microencapsulation

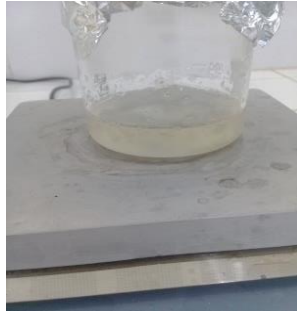
Les huiles peuvent s'altérer pendant leur stockage avant utilisation. L'altération peut être physique et/ou chimique. L'encapsulation est un procédé potentiellement bénéfique pour leur protection et leur bonne conservation (MADENE et al., 2006).

La microencapsulation consiste à construire une barrière fonctionnelle entre le noyau (huile) et le matériau de membrane pour éviter les réactions chimiques et physiques, et maintenir leurs propriétés biologiques, fonctionnelles et physicochimiques. La microencapsulation a la capacité de protéger l'huile contre l'oxydation, et d'améliorer la thermostabilité, par conséquent la durée de conservation des huiles. En outre, elle peut également être utile pour prévenir la volatilité et la libération des huiles essentielles. Les étapes de préparation des microcapsules de l'HE du zeste d'oranger sont résumées dans la figure 17.

1g Alginate + 50 ml d'eau distillée + 0,005g d'azidedesodium



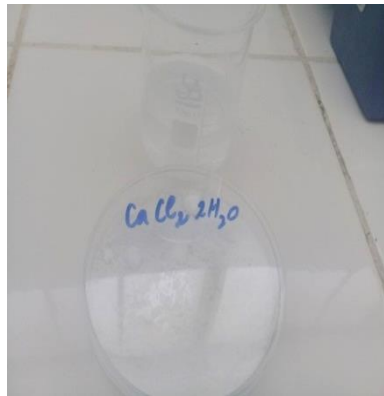
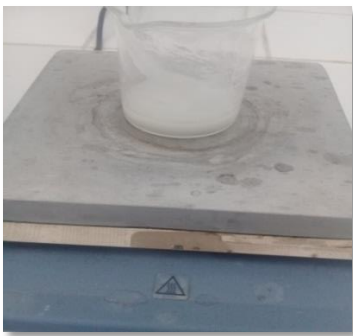
Le mélange est agité sur agitateur pendant 3heures



On prend 1ml de HE + 10ml d'éthanol pour diluer l'huile

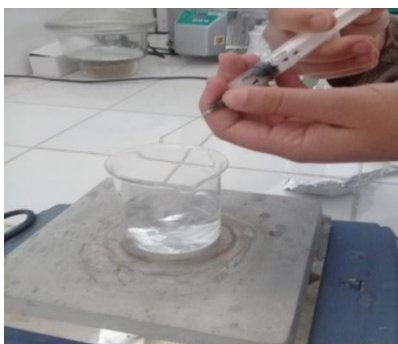


on ajoute 20ml d'alginate préparé sur l'agitateur et 5ml d'huile diluée par petites gouttes pendant 10 mn



Préparation de milieu qui va solidifier le mélange précédent par 2,5g de CaCl<sub>2</sub> + 50ml d'eau distillée sur l'agitateur

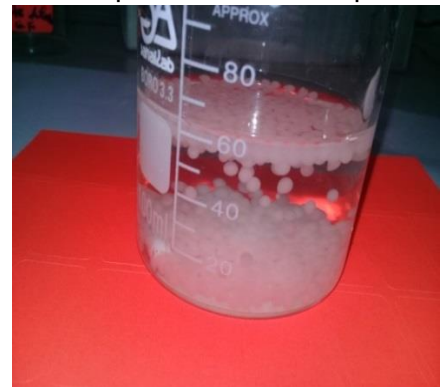
Finalement, le mélange d'huile et l'alginate est prélevé avec une seringue pour faciliter la formation des microcapsules



Formation de premières microcapsules



Microcapsules obtenues après 2h



**Fig. 17** : Microencapsulation des HE d'orange (original, d'après Lopez et al. (2012) modifié).

#### 2.4.4. Préparation des formulations et des doses des huiles essentielles d'oranger et de citronnier

Un test de toxicité a été effectué au préalable sur des coccinelles adultes pour vérifier l'effet de toxicité des deux huiles essentielles utilisées à l'état pur. Nous avons préparé au laboratoire, des dilutions à partir des solutions huileuses formulées. Pour cela, nous avons choisi deux formulations pour l'huile essentielle d'oranger (1% et 5%) et trois formulations pour l'huile essentielle de citronnier (1%, 3% et 5%). A la base, un volume fixe de 5 ml de mélange (HE+Tween 80/eau distillée) est utilisé pour les différentes dilutions. Les différentes étapes se succèdent comme suit

-On va préparer le solvant : 3g de Tween 80 + 100 ml de l'eau distillée(figure 17):



1-L'eau distillé (100 ml) 2-Tween 80



3-Le solvant préparé à base de 3g de tween 80 et l'eau distillée

Concernant l'HE d'oranger, nous avons dilué la solution mère formulée (SF) à 25% en deux doses (figures 18):

- Dose 1 : 4ml SF +1ml de (Tween 80+eau distillée).
- Dose2 : 2 ,5ml D1+ 2,5ml de (Tween 80+eau distillée).

Concernant l'HE de citronnier, on a choisi 3 formulations : 1%,3% et 5%. Pour la formulation à 1 % : on a ajouté 50 µl de HE + 4950 µL de (Tween 80+eau distillé).Pour la formulation à 3 % : on a ajouté 150 µl de HE + 4850 µL de (Tween 80+eau distillé).Pour la formulation à 1 5 % : on a ajouté 250 µl de HE + 4750 µL de

(tween+eau distillée), (figure 19). Pour diluer les 3 formulations, on va prendre quatre doses suivantes pour chaque formulation :

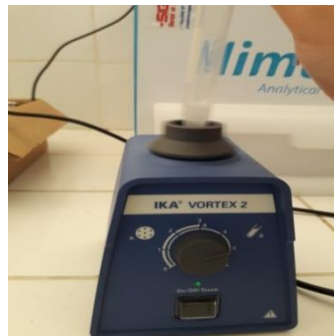
- Dose 1 : 0.5 ml de solution mère + 4.5 ml de l'eau distillée.
- Dose 2 : 1ml de solution mère + 4ml de l'eau distillée.
- Dose 3 : 1ml solution mère + 8 ml de l'eau distillée.
- Dose 4 : 1 ml solution mère + 12 de l'eau distillé.



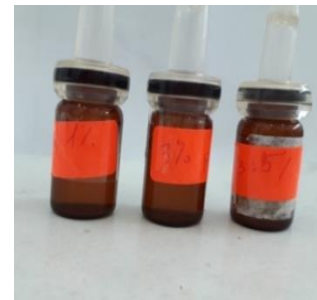
**Fig. 18** : Préparation des dilutions D1 et D2 à partir de la solution mère formulée de l'He d'orange (original, 2019).



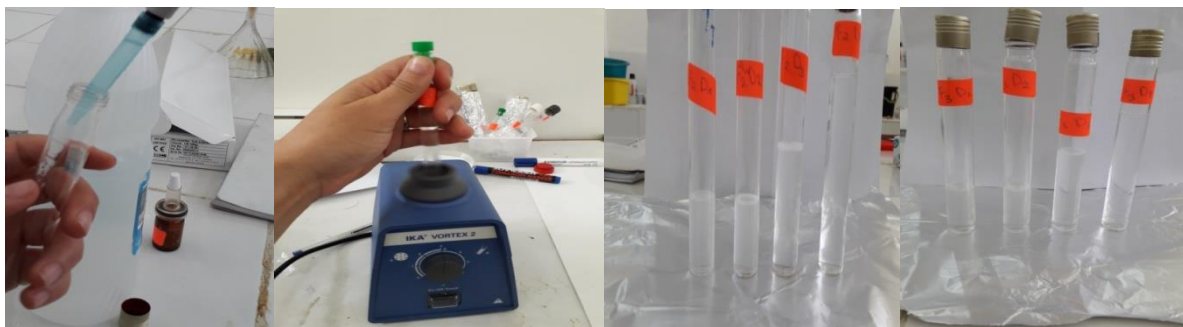
1-On ajoute l'He avec le solvant pour préparer les 3 formulations à partir de la S.M.



2-On mélange les solutions formulées par le Vortex.



3-les 3 formulations des solutions huileuses obtenues (F1, F2, F3)



1- On va préparer la dilution de chaque dose, la solution obtenue est mélangée au Vortex  
2-Nous obtenons les 4 dilutions (D1, D2, D3, D4) de chaque formulation (F1, F2 et F3)

**Fig. 19** : Préparation des formulations et des dilutions à partir de la SMF formulée de l'He

de citronnier.

#### 2.4.5. Evaluation de la toxicité des Huiles essentielles de l'oranger et ducitronnier

Un volume de 20 microlitre d'He pure de zeste d'orangerde zeste de citronniera été répandue uniformément sur une feuille de laurier infestée par le puceron jaune (*Aphisnerii*) a l'aide d'un mini-pulvérisateur manuel, chaque feuille infestée traitée a été minutieusement placé dans une boîte de Pétripuis on introduit un adulte de la coccinelle aphidiphage(figure 20). Des observations continues ont été réalisées régulièrement pendant 2 heures.

1-Bouton floral de laurier infesté par le puceron *AphisNerii*



2-On disposedes puceronsà l'aide d'un pinceau sur des feuilles de laurier non infestées.



3- On pulvérise les feuilles infestées par l'He pur de deux espèces d'agrumes



4- On ajoute les adultes d'*A. variegata* dans les boîtes de pétri

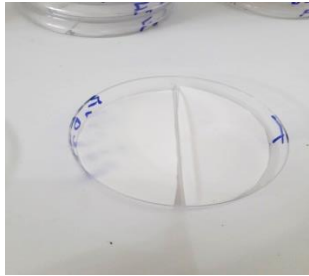


**Fig. 20** : Etapes de l'essai pour l'évaluation de la toxicité des huiles essentielles de zeste d'agrumes étudiées.

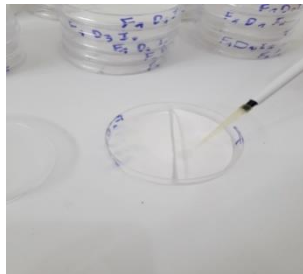
#### 2.4.6. Etude de l'effet répulsif des Huiles essentielles de citronnier et d'oranger sur les adultes d'*A. variegata* :

Les individus d'*A. variegata* sont issus de nymphes récoltées sur le feuillage du laurier rose ou récoltés à proximité de colonies du puceron du laurier rose *A. nerii* au niveau de plants d'ornement situés à la faculté SNV. Nous avons utilisé 36 adultes de coccinelles tout sexe confondu, à raison de 3 adultes pour chaque dose décrite précédemment. On a utilisé des boîtes de pétri compartimentées : un compartiment pour le témoin et le deuxième compartiment pour l'essai de traitement. On dispose

dans chaque compartiment un demi disque de papier filtre imbibé de solution de traitement et d'eau distillée, à raison d'un volume de 400 microlitre par demi disque (figure 21). L'observation de l'effet répulsif des solutions d'huile diluées est faite pendant une heure et 30 minutes, où on enregistre le nombre total d'adultes se trouvant dans un compartiment considéré à un intervalle de 15 mn.



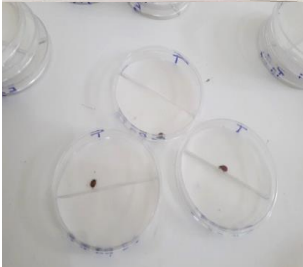
1-Boite de pétri compartimentée en 2 parties.



2- On imbibe le papier filtre par les solutions de traitement d'une part et l'eau distillée d'autre part.



3-On utilise 4 doses d1, d2, d3 et d4 pour chaque formulation : 1%,3%,5%.



4- On dispose un adulte sur le milieu de la boite avant chaque application. L'observation de l'effet répulsif se fait pendant 90 mn avec un intervalle de notation de 15 mn



**Fig. 21** : Etapes de préparation pour l'évaluation de l'effet répulsif d'*A. variegata*  
(Original, 2019)



### 2.4.7. Essais de traitements à base des solutions d'HE formulées au laboratoire

Les différents essais de traitement ont été testés selon 2 méthodes : par inhalation du biproduit et par ingestion de la nourriture aphidienne traitée.

#### 2.4.7.1. Essais de traitements par inhalation

Cette méthode a été appliquée sur les larves de *Coccinellaalgerica* de stade L3 par les solutions formulées d'He d'oranger, pour étudier l'effet sur la croissance des larves. Les larves utilisées sont âgées entre 24h et 48h après la 2<sup>e</sup> mue larvaire. Un nombre de 10 larves a été considéré pour chaque dose (D1 :80%, D2 :50%), et 6 larves pour le témoin (Tween 80+eau distillée).

Nous avons utilisé des morceaux de papier filtre de 1cm carré que nous avons imprégné chacun par 10 microlitre de chaque dose préparée. Les différents papiers filtre sont mis à sécher pendant 5 mn à température ambiante puis sont enroulés et introduits séparément dans un eppendorf dont le couvercle a été perforé. Chaque eppendorf est disposé dans une boîte de pétri contenant une larve L3 de *C. algerica* (figure 22 A à D).



A B C D E

**Fig. 22 :** Etapes de préparation de l'essai de traitement par inhalation

#### 2.4.7.2. Essais de traitements par ingestion

Cette méthode a été appliquée sur les adultes de *C. algerica* par les solutions huileuses d'He de l'oranger et de citronnier formulées pour étudier leur effet sur la fécondité.

De jeunes feuilles de laurier non infestées ainsi que des pucerons de l'espèce *Aphisnerii* (le puceron du laurier rose) récoltés de feuilles et rameaux avec boutons floraux infestés ont été considérés quotidiennement durant la période de l'essai.

Un volume suffisant de chaque dilution préparée a été pulvérisé sur une feuille d'agrumes infestée par le puceron vert des agrumes (*Aphispiraeicola*) à l'aide d'un mini-pulvérisateur manuel, de manière à imbiber toute la surface foliaire, chaque feuille infestée traitée ou non traitée (témoin: avec l'eau distillée + le tween80) a été minutieusement placée à l'aide d'une pince fine dans une boîte de Pétri (figure 23).

Le suivi a été réalisé régulièrement pendant 15 jours après le traitement. On prend 5 adultes pour chaque dose et 3 adultes pour le témoin. Nous avons utilisé les doses et les dilutions préparées et décrites précédemment à savoir deux doses pour l'He du zeste de l'oranger et quatre doses pour l'He du zeste de citronnier. Les adultes femelles son âgées de 2 à 3 jours après leur émergence, les individus sont dispensés de nourriture pendant 24h juste avant l'application des traitements.



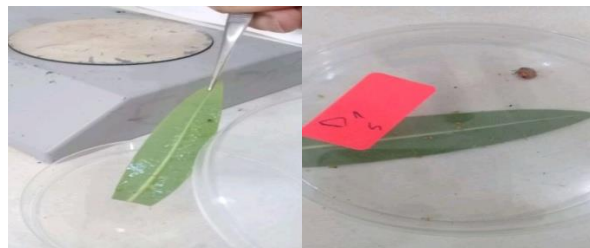
1-On prend 5 jeunes feuilles de laurier rose pour chaque dose et 3 feuilles pour le témoin.



2-On pulvérise les feuilles par les solutions. On laisse sécher pendant 5 mn



3-On dispose des pucerons du laurier sur les feuilles de laurier à l'aide d'un pinceau.



4- Puis, on remet les feuilles dans les boîtes de pétri auxquelles on rajoute les adultes

**Fig. 23** : Etapes de préparation de l'essai de traitement par ingestion

## 2.5. Paramètres étudiés

### 2.5.1. Evaluation du rendement en huiles essentielles extraites des zestes:

Le rendement en huiles essentielles est le rapport entre le poids d'huile essentielle extraite et le poids de la masse du matériel végétal utilisé.

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) (NDOYE FOE et al., 2016). Il est calculé par la formule:

$$R\% = P_{He} / P_{mv}$$

- R: le rendement en huiles essentielles (%).
- PHe: poids d'huile essentielle extraite (g).
- Pmv: poids de matériel végétal utilisé.(g)

La différence comparative entre les deux rendements a été analysée par les tests de Wicoxon et de Monte Carlo (Past, vers. 9.1).

### 2.5.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles étudiées

L'évaluation de la toxicité des HE des zestes d'oranger et de citronnier est calculée sur la base du rapport du nombre d'individus morts après 2h d'exposition sur le nombre d'individus total traités et par rapport aux témoins non traités, le tout est rapporté en pourcentage.

### 2.5.3. Evaluation du taux de répulsion des huiles essentielles étudiées

Le pourcentage de répulsion(PR) est calculé comme suit :

$PR (\%) = [(Nh_{2o} - N_{he}) / (Nh_{2o} + N_{he})] \times 100$  d'après NERIO et *al.* (2009)

où Nh<sub>2o</sub> représente le nombre de coccinelles présentes sur le demi-disque imbibé d'eau distillée et N<sub>he</sub> le nombre de coccinelles présentes sur le demi-disque traité avec la solution d'huile essentielle formulée et diluée aux différentes doses pour chaque formulation.

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile est calculé et attribué à l'une des différentes classes de pourcentages de répulsion variant de 0 à V (MC DONALD et *al.*, 1970),

- Classe 0**  $PR \leq 0,1\%$  Très faiblement répulsif
- Classe I**  $0,1\% < PR \leq 20\%$  Faiblement répulsif
- Classe II**  $20\% < PR \leq 40\%$  Modérément répulsif
- Classe III**  $40\% < PR \leq 60\%$  Moyennement répulsif
- Classe IV**  $60\% < PR \leq 80\%$  Répulsif
- Classe V**  $80\% < PR \leq 100\%$  Très répulsif

Les taux de répulsion respectifs enregistrés aux différents intervalles temporels pris en considération ont fait l'objet d'une analyse de variance sans interaction (ANOVA, modèle linéaire général, Systat vers. 12).

### 2.5.4. Evaluation des effets par inhalation et par ingestion des huiles essentielles étudiées

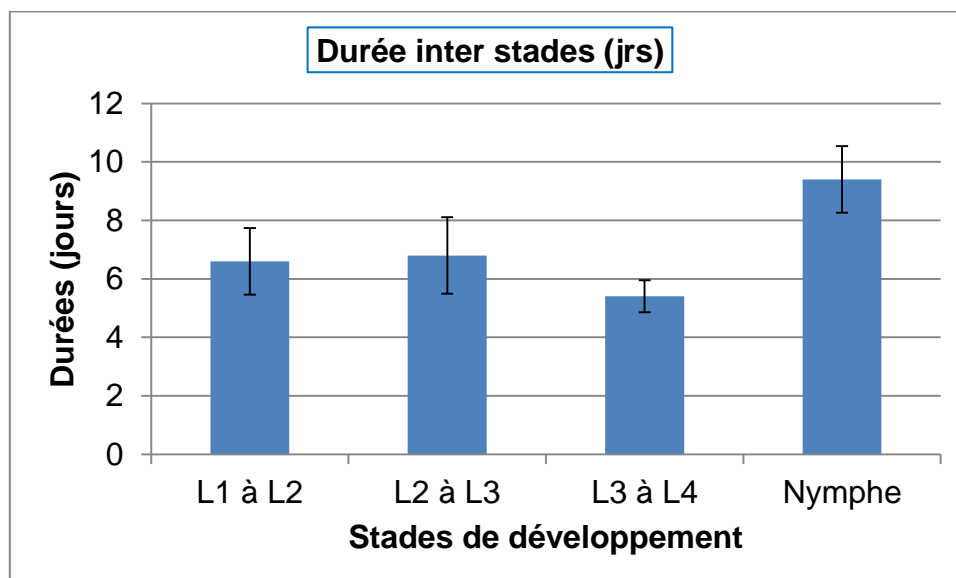
Les huiles essentielles ont des effets toxiques sur les insectes on générale soit par inhalation ou par ingestion elles se présentent un risque de toxicité sur la faune auxiliaires, dans ce travail on a essayé de voir l'effet subléthal des huiles essentielles de citronnier et d'oranger formulées à des faibles doses.

On peut voir également que les traitements par ingestion ont provoqué une réduction du nombre d'œufs pondus et de perturbations par rapport à l'effet par inhalation.

### 3.1. Résultats des durées de développement de *C. algerica* dans les conditions d'élevage au laboratoire

Les femelles adultes de *C. algerica* qui se sont accouplées pondent des œufs ovales, de couleur jaune-orange, mesurant 1 à 2 mm. Ils sont souvent regroupés et le nombre d'œufs par ponte est variable. D'après nos observations, l'éclosion des œufs dure en moyenne 6 à 8 jours, le développement larvaire dure 10 à 12 jours alors que la nymphose a duré de 9,4 à 10 jours.

Les durées des différents stades enregistrées au cours de nos observations se rapprochent de ceux de Bendar et Bakari (2015) qui ont étudié également le développement de *C. algerica* au laboratoire. Ces auteurs ont noté des durées respectives de  $6,6 \pm 1,14$  jrs du stade L1 au stade L2 ;  $6,8$  jours  $\pm 1,30$  jours du stade L2 au stade L3 ;  $5,4 \pm 0,54$  jours et  $9,4 \pm 1,14$  jours du stade L3 au stade L4 (figure 24).



**Fig.24** : Durées des stades de développement de *C. algerica* au laboratoire (d'après Bendar et Bakari, 2015).

La durée totale du développement larvaire enregistrée par ces mêmes auteurs paraît similaire à celle qui a été trouvée pendant notre expérimentation en plus de la durée des éclosions des œufs soit 18 jours.

D'après Rahmouni et al. (2017), la durée moyenne du développement larvaire de *C. algerica* sous serre est de 18 jours (à 20°C- 27°C et 65 à 70% d'humidité relative) et de 11 jours au laboratoire une température variant entre 25°C et 30°C et une humidité relative de 65% à 75%.

D'après les mêmes auteurs, les différences de durée du développement sont les plus marquées pour les L2 et L3 selon les apports alimentaires disponibles.

### 3.2. Rendements obtenus en huiles essentielles

Le rendement d'extraction en huile essentielle des deux plantes étudiées exprimés en pourcentage de poids par rapport à l'écorce des fruits, est de 0.15% pour l'He d'orange (fruits mures) et de 0.061% pour l'He de citronnier (fruits verts).

Selon Bouhali (2015), le zeste frais de *C. sinensis* donne un rendement plus élevé d'HE que le zeste sec (respectivement  $0.50 \pm 0.01\%$  et  $0.39 \pm 0.09\%$ ). Le rendement d'extraction du zeste frais trouvé par Bendar et Bakari (2015) est de 0,733. Des rendements significativement élevés sont obtenus par Bousbia (2011) lors de l'hydrodistillation des écorces de *C. sinensis*. Var. Valencia (1.1%)

D'après Himed et al., (2016), le rendement des huiles essentielles est influencé par le mode d'extraction en comparant les rendements obtenus par les méthodes d'hydrodistillation et de pression à froid.

Ben Miri et al.,(2018) et Djenane.(2015) ont trouvé des valeurs de 0,62% et 0,70% respectivement avec l'HE de l'écorce de citron frais de la variété Eureka. Notons que les teneurs en HE obtenues dans notre cas sont bien en dessous des différentes teneurs en HE rapportés par ces auteurs Cette différence peut être due à différents facteurs intrinsèques à la plante et surtout d'autres paramètres tels la période de la récolte, le climat, la variété, son degré de fraîcheur et des facteurs liés à l'expérimentation selon (Djenane, 2015).

### 3.3. Formulation de l'huile essentielle d'oranger par microencapsulation

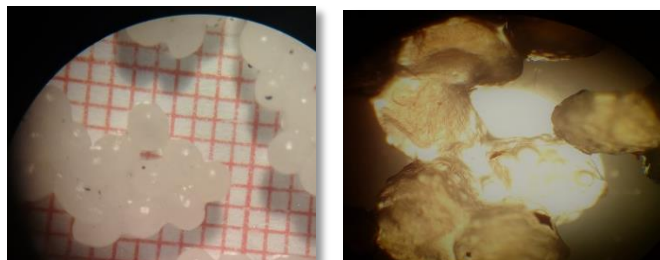
L'objectif de l'encapsulation est de préserver la stabilité des composés bioactifs pendant le traitement et le stockage, et ralentir les processus de dégradation telle l'oxydation ou l'hydrolyse jusqu'à ce que le produit soit libéré aux sites désirés (MCCLEMENTS et LESMES, 2009). D'après DESAI et PARK, (2005), l'encapsulation a un bénéfice pour la modification des caractéristiques physiques du produit original pour faciliter sa manipulation, aider à séparer les composants du mélange qui réagirait autrement entre eux et pour fournir une concentration adéquate et une dispersion uniforme d'un agent actif.

Les propriétés des produits encapsulés dépendent en grande partie de la taille de la capsule, des matériaux d'enrobage, des ingrédients actifs et des techniques de production (Abdellaoui, 2018).

Le diamètre moyen obtenu après séchage des microcapsules conservées à l'abri de la lumière se stabilise après 15 jours. A la fin de la préparation de la formulation les capsules avaient un diamètre de 10mm. Ce dernier atteint un diamètre de 0,95 mm au bout d'une semaine et il se stabilise après 2 semaines avec un diamètre de 0,92 mm en moyenne (tableau 6, figure 25).

**Tableau 6** : Diamètres de microcapsules mesurés selon le temps de séchage.

Semaines	Diamètre moyen (N=10 microcapsules)
1 semaine	0,95 mm
2 semaines	0,92 mm



**Fig.25** : Microcapsules de l'HE du zeste d'oranger observées à la loupe binoculaire (à gauche) et au microscope (à droite).

### 3.4. Etude de la toxicité des huiles essentielles étudiées

Les deux huiles essentielles appliquées à l'état pure directement sur les feuilles infestées de pucerons ont conduit à la mortalité non seulement des pucerons mais aussi des coccinelles prédatrices *C. algerica*.

Nous avons observé un effet de choc sur les aphides, qui a été atteint dès la première demi-heure après l'application. Concernant les adultes de *C. algerica*, nous avons constaté différents comportements suivis par la mortalité des individus (tab.7.a et 7b).

**Tableau .7a.** Effet de l'huile essentielle pure de zeste d'oranger sur les adultes de *C. algerica*. (T1 à T4 correspondent aux différents temps d'observation après traitement : 15mn, 30mn, 45mn, 1 heure).

Adulte	T1	T2	T3	T4
A1	Crise	crise	Crise	Mort
A2	Crise	crise	Crise	Mort
A3	Crise	crise	Mort	Mort
A4	Mort	mort	Mort	Mort
A5	Crise	crise	Crise	Mort
Toxicité %	20	20	40	100

L'effet de choc de l'huile essentielle pure d'oranger s'est manifesté en moyenne à partir de 45 mn après le contact par ingestion du bioproduit (tab.7.a).

De la même manière, l'effet de l'huile essentielle pure de citronnier apparait en moyenne d'après nos observations au bout de 30 mn et peut s'étendre jusqu'à 1 heure après application, temps après lequel nous avons obtenu 100% de mortalité (Tab. 7.b).

**Tableau 7b.** Effet de l'huile essentielle pure de citronnier sur les adultes de *C. algerica*. Aux différents temps d'observation après traitement.

Adulte	10 min	20 min	30 min	1h
A1	Crise	mort	Mort	Mort
A2	Mort	mort	Mort	Mort
A3	Crise	crise	Mort	Mort
A4	Crise	Crise	Crise	Mort
A5	Crise	Crise	Crise	Mort
Toxicité %	20	40	60	100

Après 1 heure d'exposition, tous les individus testés sont morts confirmant la toxicité huiles essentielles pures étudiées. En effet, nous avons constaté une mortalité de 100% (tableau 7a et b, figure 26).



**Fig.26.** Adulte de *C.algerica* et individus du puceron *A. nerii* après application de l'huile essentielle pure.

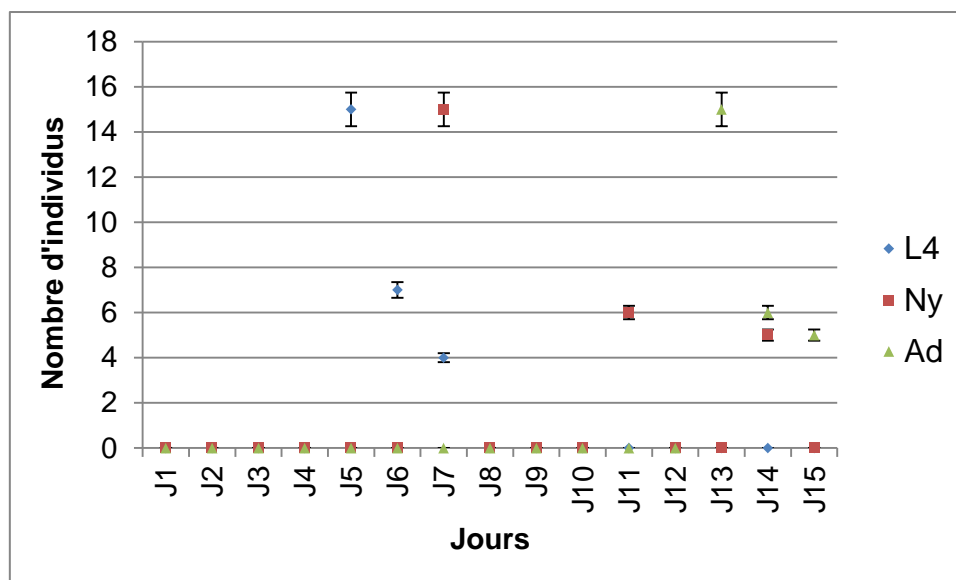
### 3.5. Etude de l'effet des traitements à base des solutions formulées des huiles essentielles étudiées sur la durée de développement larvaire.

#### 3.5.1. Effet de l'huile essentielle d'oranger par inhalation sur les larves de *C. algerica* :

Les larves de *C. algerica* ayant été traitées par inhalation des solutions d'huiles essentielles d'oranger se sont développées en larves L4 au bout d'un intervalle de 5 à 7 jours (6 jours en moyenne).



Les nymphes apparaissent entre 7 et 14 jours (7 jours en moyenne) et les adultes entre 13 et 15 jours (14 jours en moyenne) (figure nombre d'individus L3 ayant atteint les différents stades L4, nymphe et adulte est faible par rapport au nombre total d'individus observé, (26 larves L3) après inhalation du bioproduit (figure 27).



**Fig. 27** : Durée de développement des L3 de *C. algerica* sous l'effet de l'application de l'HE d'oranger par inhalation (N= 26 L3).

### 3.5.2. Effet de l'huile essentielle d'oranger par ingestion sur la fécondité des adultes de *C. algerica* et *A. variegata*

Le nombre de ponte des coccinelles *C. algerica* et *A. variegata* ayant ingéré des pucerons traités est négligeable à nul comparativement au témoin non traité (tableau 8).

**Tableau 8** : Fécondité des deux espèces de coccinelles étudiées sous l'effet des HE formulées de l'oranger au laboratoire.

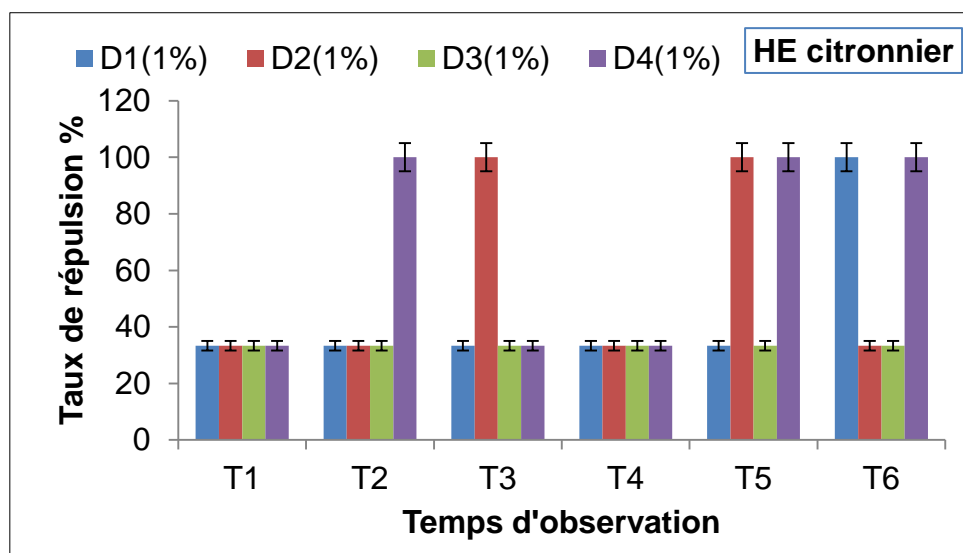
Espèces de Coccinelles	Nombre d'individus	Total Pontes	Nombre total d'œufs/pontes
<i>C. algerica</i>	50	4	54
<i>C. algerica</i> traités	20	0	0
<i>Adoniavariegata</i>	20	3	30
<i>Adoniavariegata</i> traités	30	1 après 7 jrs d'accouplement	5

Il est de 4 pontes avec un nombre d'œufs pondus par ponte de 13,5 œufs en moyenne chez *C. algerica*. Chez les femelles d'*A. variegata*, le nombre de pontes obtenues chez les individus témoins est de 3 pontes à raison de 10 œufs en moyenne par ponte. Par contre, il n'y a aucune ponte de *C. algerica* observée pour les adultes traités par ingestion des différentes doses d'huiles formulées, les femelles d'*A. variegata* traitées pondent une seule fois après 7 jours d'accouplement (tableau 8).

### 3.6. Etude de l'effet répulsif des solutions huileuses des zestes d'orange et de citronnier

#### 3.6.1. Etude de l'effet répulsif des solutions huileuses des zestes du citronnier

Les pourcentages de répulsion des solutions d'HE formulées et diluées du zeste de citronnier sont représentés dans les figures 28, 29 et 30.

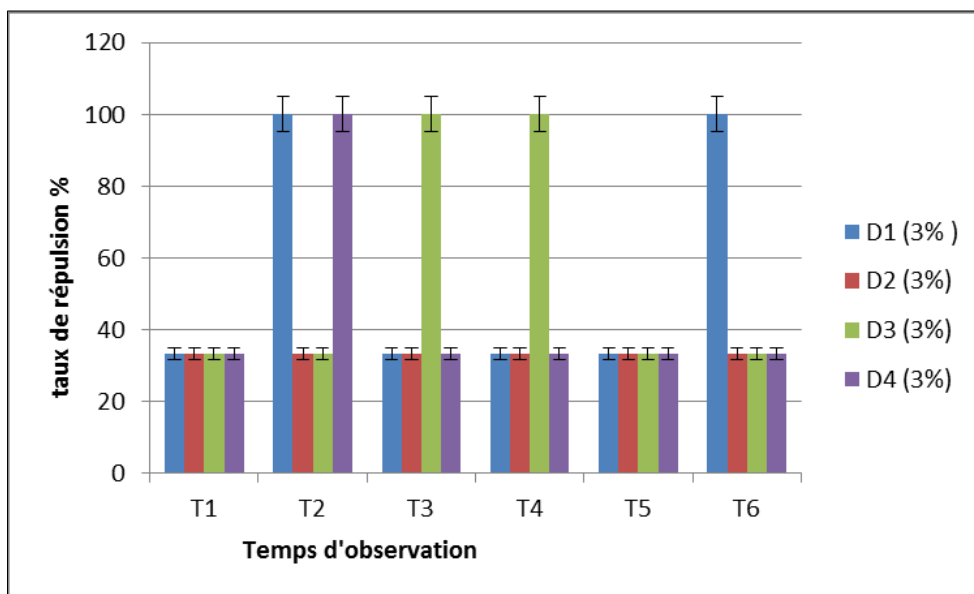


**Fig. 28** : Evolution du taux de répulsion temporelle de l'HE formulé à 1% du citronnier sur les adultes d'*A. variegata* au laboratoire.

On peut constater d'après la figure 28 :

- Un taux de répulsion stable (30%) pour les 4 doses aux temps T1 et T4,
- Les résultats sont stables au temps T2 sauf pour la 4<sup>ème</sup> dose
- Au temps T5, le taux de répulsion à D1 et D3 est stable (30%) il augmente avec D2 et D4 à 100%.

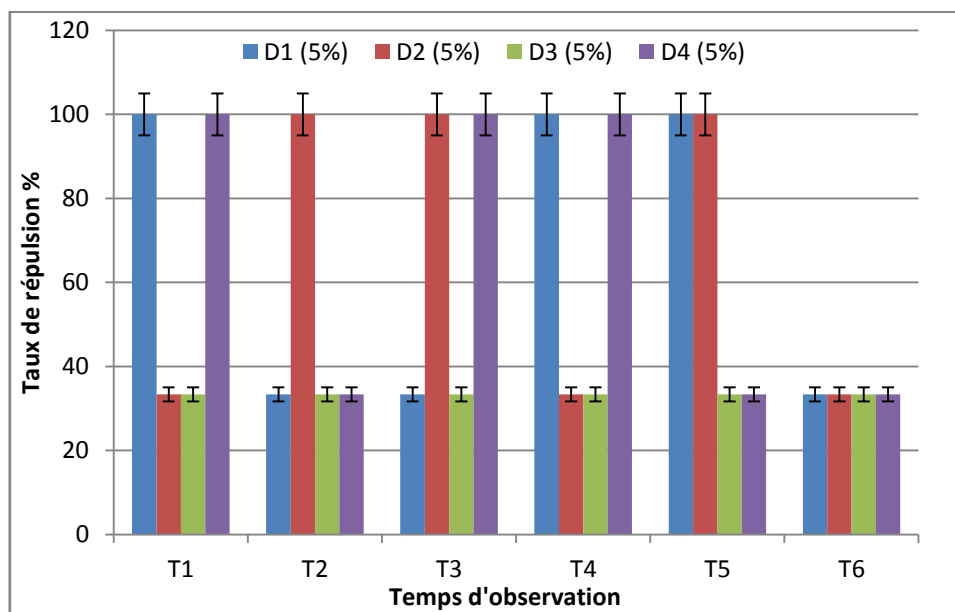
L'effet temporel de répulsion de l'HE formulée du citronnier à 3% est donné dans la figure 29.



**Fig.29** :Evolution du taux de répulsion temporel de l'HE formulé à 3% du citronnier sur les adultes d'*A. variegata* au laboratoire.

Pour la formulation de 3% les 4 doses sont stables pour T1 et T5, pour le T4 et T3 les 3 doses sont stables mais la D3 est de 100%, et au temps T2, l'effet répulsif des doses D2 et D3 est de 30% , l'effet répulsif des doses D1et D4 augmente à 100%.

L'effet temporel de répulsion de l'HE formulée du citronnier à 3% est donné dans la figure 30.

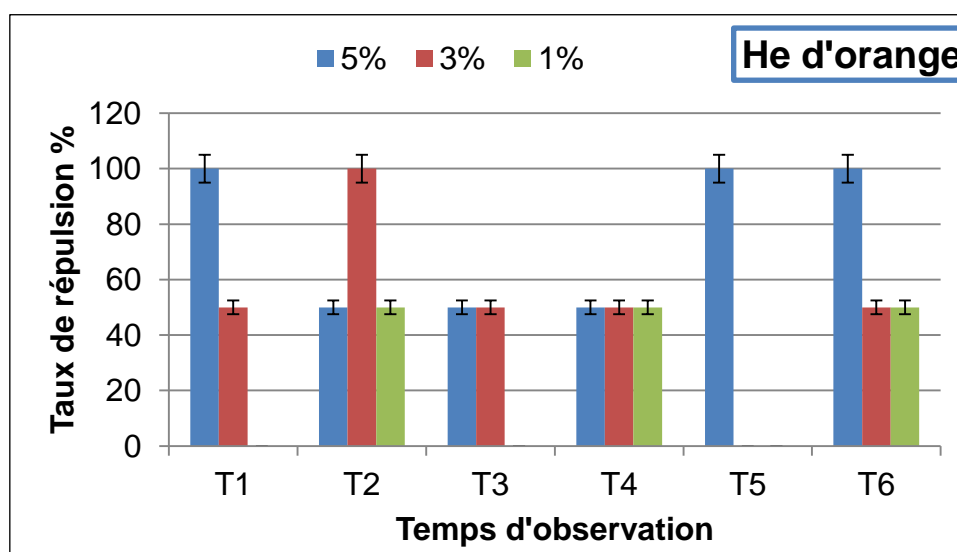


**Fig.30** :Evolution du taux de répulsion temporel de l'HE formulé à 5% du citronnier sur les adultes d'*A. variegata* au laboratoire.

La comparaison des effets des 4 doses sur le taux de répulsion montre qu'au temps T6 la répulsion se stabilise à 30%. Aux temps T1, T4 et T5, les doses D1 et D4 induisent 100% de répulsion. L'effet répulsif sous l'effet de la dose D2 de 100% est observé aux temps T2, T3 et T5. Au temps T6 il reste stable sous l'effet de toutes les doses (figure 30).

### 3.6.2. Etude de l'effet répulsif des solutions huileuses des zestes de l'oranger

Les pourcentages de répulsion des solutions d'HE formulées et diluées du zeste de citronnier sont représentés dans la figure 31.



**Fig .31** : Evolution de taux de répulsion temporelle des adultes pour les 3 formulations d'huile d'orange.

Plus précisément, on constate que le taux de répulsion des coccinelles avec le traitement d'huile formulée et diluée d'orange est de 100% les HE formulées à 5%, 3% et 1% aux temps T1, T5 et T6. De même, la dose formulée à 3% a induit un effet similaire au temps T2.

### 3.6.3. Classes de répulsion des solutions huileuses des zestes de l'oranger et du citronnier

Après une durée d'exposition de 90 mn aux solutions huileuses par effet d'inhalation, nous avons établi et classé les taux moyens de répulsion selon (MC DONALD et *al.*, 1970) (tableau 9 a et b).

**Tableau 9a:** Classes de répulsion des doses et des dilutions des solutions huileuses formulées du zeste d'oranger.

Dose %	Classe de répulsion
SM (HE 25 %)	Répulsif
D1 (5%)	faiblement répulsif
D2 (1,14%)	très faiblement répulsif

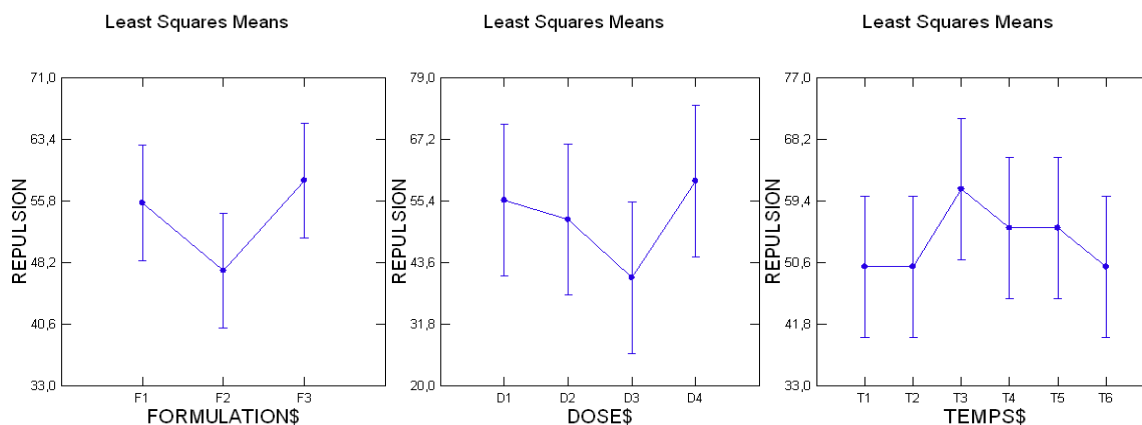
**Tableau 9b:** Classes de répulsion des doses et des dilutions des solutions huileuses formulées du zeste de citronnier.

Formulation	doses %	classe de répulsion
F1 (1%)	D1 100%	Modérément répulsif
	D275%	Très faiblement répulsif
	D350%	Très faiblement répulsif
	D4 25%	Très faiblement répulsif
F2 (3%)	D1 100%	Très faiblement répulsif
	D275%	faiblement répulsif
	D350%	moyennement répulsif
	D4 25%	Très faiblement répulsif
F3 (5%)	D1 100%	Répulsif
	D275%	faiblement répulsif
	D350%	faiblement répulsif
	D4 25%	Très faiblement répulsif

De manière globale, les solutions huileuses formulées sont répulsives aussi bien en ce qui concerne l'huile essentielle de l'oranger formulée à 25% que pour l'huile essentielle de citronnier formulée à 5% à la dose D1 (100%) (Tableau 9 a et b). Les autres doses et dilutions ont manifesté une répulsion faible à très faible à l'égard des adultes *d'A. variegata*. Par contre, d'après nos observations, l'huile essentielle du zeste de citronnier Eureka formulée à 1% a manifesté un effet modéré à la dose D1 (100%), alors que la même huile formulée à 3% a engendré un effet répulsif moyen à la dose de 50% (tableau 9b).

### 3.6.4. Analyse comparative des effets répulsifs des solutions huileuses étudiées à l'égard d'*A. variegata*

L'analyse de la variance sans interactions entre facteurs, nous a permis d'évaluer l'effet de la formulation huileuse testée, des doses et du temps d'exposition sur les variations des effets répulsifs des deux HE étudiées à l'égard de la coccinelle aphidiphage *Adoniavariegata* (tableau 10 et figure 32).



**Fig. 32 :** Analyse comparative de l'effet de répulsion des huiles essentielles étudiées (ANOVA, GLM, Systat vers.12).

Nous remarquons que de l'HE de citronnier formulée à 5% a induit un effet répulsif plus élevé que celui de la même huile formulée respectivement à 3% et à 1%. Les dilutions D1 et D4 manifestent une répulsion plus élevée. L'effet répulsif de l'huile formulée augmente par ailleurs en fonction du temps d'exposition jusqu'à 45 mn après application du biproduct (figure 32).

La différence est marginalement significative ( $p= 0,078$ , F ratio= 2,77) pour le acteur facteur formulation d'après nos résultats (tableau 10). Cependant, les effets répulsifs semblent similaires sous l'effet des facteurs doses et temps d'exposition puisque nous n'avons pas enregistré de différences significatives ( $P > 5\%$ , tableau 10).

**Tableau 10 :** Résultats de l'analyse de variance (ANOVA) sans interactions relatifs à la comparaison des taux de répulsion des solutions huileuses étudiées (Modèle GLM, Systat. Vers. 12).

Formulation	4 815,296	2	2 407,648	2,577	<b>P= 0,078 (différence marginale)</b>
Dose	3 704,074	3	1 234,691	1,322	P= 0,268 NS
Temps	3 704,074	5	740,815	0,793	P=0,556NS
Erreur	191 500,630	205	934,149		

### **3.7. Discussion générale :**

Nous avons appréhendé dans le présent travail l'étude des effets de l'application d'un traitement biologique à base d'huiles essentielles extraites des pelures de citronnier et d'oranger sur la répulsion, la croissance et la fécondité d'un modèle de coccinellidae aphidiphage.

L'hypothèse de notre recherche était fondée sur la question de savoir si les applications des doses sélectionnées des He étudiées avaient un effet subléta sur cette espèce aphidiphage.

Les huiles essentielles se présentent généralement sous forme de mélanges complexe dont il est nécessaire de connaître avec précision avec la composition avant toute étape de valorisation la caractérisation d'une huile essentielle est une opération indispensable lorsque l'on souhaite la contrôler, la commercialiser, ou mettre en évidence son éventuelle spécificité un examen systématique des découvertes phytochimiques répertoriées, en utilisant la base de données NAPRALERT (Natural products Alert Database), révèle que seulement 2 à 5% des espèces végétales ont été examinées en détail d'un point de vue phytochimique.

#### **3.7.1. Le rendement des huiles essentielles des espèces d'agrumes étudiées :**

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (CSEKE et KAUFMAN, 1999).

L'extraction de l'huile essentielle d'orange et de citronnier a été faite par l'utilisation de technique d'hydrodistillation par clevenger.

Le rendement des huiles essentielles est : 0.15% pour l'He d'orange et 0.061% pour l'He de citronnier. La nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et causer des pertes en eau d'air. Les trachées et les sacs d'air sont enduits de cette couche cireuse et sont affectés par l'huile essentielle ce qui peut entraîner l'asphyxie des insectes (WIGGLESWORTH, 1972).

#### **3.7.2. Effet des produits biologiques testés :**

Les pesticides peuvent affecter l'expression ou l'activité des transporteurs ABC, première barrière de l'organisme vis-à-vis des xénobiotiques. Ils peuvent moduler l'activité ou l'expression de certains cytochromes P450 impliqués dans la détoxification de nombreux composés exogènes. L'impact d'un pesticide sur ces deux systèmes cellulaires peut modifier leur propre biodisponibilité ou celle d'autres pesticides. De plus, la plupart des pesticides possèdent des propriétés pro-oxydantes et certains composés agissent sur l'activité de voies de signalisation impliquées dans la régulation de la croissance et de la survie cellulaire (VIAU, 2002).

Les produits toxiques aux insectes adultes sont ceux qui provoquent une forte mortalité dans la population à faible concentration (KETOH ET AL., 2004). En considérant le faible nombre d'études qui leur a été consacré, on peut penser que les extraits de plantes ont peu d'impacts négatifs sur les auxiliaires en comparaison à ceux occasionnés par les insecticides de synthèse. En effet, leur application permet de maintenir un équilibre écologique entre ravageurs et auxiliaires (MOCHIAH ET AL., 2011). Comparé aux insecticides de synthèse, AMOABENG ET AL. (2013) ont, par exemple, constaté que la population des auxiliaires (*Coccinellamagnifica* Redtenbacher, *Episyrphus balteatus* De Geer) et des araignées prédatrices était plus importante sur les parcelles de chou traitées avec des extraits de plants que des insecticides de synthèse. Similairement, des taux de parasitisme élevés de *P. xylostella*, notamment par les hyménoptères *Oomyzussokolowskii* Kurdjumov et *Apanteles litae* Nixon, ont été enregistrés dans les parcelles de chou traitées avec un produit à base d'A. indica comparé à celles traitées au diméthoate (SOW ET AL., 2015). Cet équilibre écologique est beaucoup plus en faveur de la lutte biologique que le déséquilibre écologique causé par l'usage des pesticides de synthèse.

Les chercheurs ont fait des tests d'évaluation de toxicité en laboratoire, au stade adulte et momie, sachant que lors d'un traitement chimique au champ, ces stades courent le risque d'exposition à des pesticides. Ainsi le mode d'application d'insecticides en laboratoire varie en fonction du stade de développement auquel sont exposés les parasitoïdes. Il est généralement admis que le principal risque d'exposition des parasitoïdes aux insecticides se situe chez les adultes lorsqu'ils parcourent le feuillage traité, à la recherche d'insectes hôtes. Chez les insectes parasitoïdes, les effets sublétaux les plus étudiés sont les effets sur la fécondité (KRESPI, 1990) et la longévité des femelles adultes et sur le taux de parasitisme qu'elles provoquent dans la population d'insectes hôtes (DELORME, 1976; ELZEN, 1989).

Des effets apparaissent dans le comportement de ponte. L'exposition à des résidus d'insecticide peut affecter tous les comportements participant au succès parasitaire, même à des doses n'entraînant aucune mortalité.

### **3.7.3. Evaluation de l'effet des traitements à base des huiles essentielles du citronnier et d'orange sur *C.algerica* :**

Les traitements foliaires de l'huile essentielle d'*E.globulus* réalisés au sein des canopées, ont induit globalement une toxicité importante sur les larves de *S. subvillosum*, caractérisée par une diminution populationnelle brusque observée deux jours seulement après l'application du biopesticide. Les abondances populationnelles des deux groupes taxinomiques aphides-coccinelles diminuent considérablement dans le temps, d'abord avec un effet de choc durant les deux jours qui succèdent à l'application puis un effet retard avec des abondances presque nulles durant une période de 5 jours chez les coccinellidae prédatrices qui ont été particulièrement



sensibles aux traitements. Les deux formulations appliquées aux doses de 9 ml/l et 12 ml/l ont induit des effets similaires

La composition et le rendement des huiles essentielles peuvent varier selon l'âge, le cycle végétatif de l'organe, et le mode d'extraction, les facteurs climatiques et la nature du sol.

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition, sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres, d'origine intrinsèque (génétique, stade végétatif), d'origine extrinsèque (sol, climat, latitude) ou d'ordre technologique c'est-à-dire lié aux techniques d'exploitation du matériel végétal.

En effet, de profondes modifications s'opèrent lors du séchage, du stockage, de l'extraction et du conditionnement (EVANS, 1998). L'effet des huiles sur les insectes n'est donc pas systématique car on observe des réponses différentes suivant l'espèce d'insecte et d'huile essentielle. Les effets des molécules bioactives peuvent varier en fonction des plantes, de la molécule elle-même, de la dose utilisée, de la fréquence et de l'opportunité du traitement, (ROLLAND, 2004 ; CETKOVIC et al., 2007, SIDDHURAJU et BECKER, 2007).

La toxicité temporelle des solutions des deux huiles essentielles du citronnier et d'oranger ont été évaluées dans les conditions du laboratoire sur *C.algerica* en relation avec les dilutions appliquées.

L'abondance des arthropodes est toujours affectée négativement par la: régimes de gestion des ravageurs intensifs (SUCKLING et al., 1999; BROWN et SCHMITT, 2001; SIMON et al., 2007). Il semble par ailleurs que les effets (1&6 dilutions axhuilaeassemblies et dos polyphénols du pamplemoussier et d'oranger soient différents.

TROMBETTA ET AL., (2002), SATRANI, (2008),) expliquent que l'activité insecticide pourrait être attribuée à l'effet des composés majoritaires, notamment les constituants phénoliques. La toxicité des huiles essentielles du citronnier, de l'orange douce et du pamplemoussier administrées par inhalation aux doses testées (5, 9, 13 et 17  $\mu$ l) sur les adultes de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* serait liée probablement au citral et 5.7 diméthoxycoumarine et le linalol, d'après BACHI, (2012).

Il n'y a pas eu d'effet toxique des deux formulations de l'huile essentielle testée sur les larves de *C.Algérica* prédateur phidiphage également, étant donné que les pourcentages des individus survivants restent en dessus de 60%, après 5 jours d'exposition aux traitements.

Notre expérimentation reste sujette à une complémentarité pour vérifier cet effet du produit biologique puisque les larves entrent en nymphose majoritairement dès 48h après application des traitements, L'hypothèse d'une réaction d'évitement du produit en tant que résistance des larves, pourrait expliquer leur entrée en nymphose. Des

observations supplémentaires après la nymphose nous ont permis de constater que des adultes ont émergé des nymphes. D'après Maynard-Smith (1989), certains insectes développent une résistance qui se concrétise en une pénétration réduite d'un xénobiotique donné dans l'organisme en relation avec une modification structurale de la cuticule. Dans une expérience étudiée en laboratoire sur les effets d'un savon insecticide sur la survie du parasitoïde des pucerons, *Aphidius colemani*, Tremblay, (2006) a montré que le savon n'a pas eu d'effet sur la survie des parasitoïdes immatures. Les guêpes qui ont été en contact avec des pucerons traités au savon n'ont pas pondu autant dans ces derniers que dans les témoins, ce qui indique que les guêpes ont détecté et évité les pucerons traités au savon. Probablement, dans notre expérimentation, les larves auraient évité d'ingérer par ailleurs des pucerons présents sur les jeunes pousses traitées, dans le traitement indirect.

### Résumé

Le présent travail a porté sur l'étude des effets de l'application d'un traitement biologique à base d'huiles essentielles (He) extraites des pelures de citronnier (Eureka) et d'oranger (Valencia Late) de la région sud est de Blida sur la toxicité, la répulsion, la croissance et la fécondité d'un modèle de coccinellidae aphidiphage.

Le rendement d'extraction par hydrodistillation en huile essentielle est de 0.15% pour l'He d'orange (fruits mures) et de 0.061% pour l'He de citronnier (fruits verts). Ces huiles essentielles utilisées à l'état pur entraînent un effet létal total après 1 heure d'exposition des coccinelles au bioproduit. L'huile essentielle de l'oranger formulée à 25% ainsi que l'huile essentielle de citronnier formulée à 5% à la dose de 100% sont répulsives sur les adultes d'*Adoniavariegata* goeze. L'huile essentielle du zeste de citronnier Eureka formulée à 1% a manifesté un effet modéré à la dose D1 (100%), alors que la même huile formulée à 3% a engendré un effet répulsif moyen à la dose de 50%. Les formulations à 5% et à 1,14% de l'He du zeste d'oranger n'ont pas agi sur la croissance des larves de stade L3 de *C. algerica* par contre elle provoque des perturbations sur la fécondité de *C. algerica* et *A. variegata*.

**Mots clés :** *Citrus lemon* var. Eureka, *Citrus sinensis* var. Valencia late, coccinellidae aphidiphage, huiles essentielles.

### Abstract

The present work focused on the study of the effects of biological treatment based on essential oils (He) extracted from the lemon (Eureka) and orange (Valencia Late) peels of the southeast of Blida region on the toxicity, repulsion, growth and fecundity of a model of aphidiphagous coccinellidae.

The hydrodistillation extraction yield in essential oil is 0.15% for orange He (mature fruits) and 0.061% for lemon grass (green fruits). These essential oils used in a pure state cause a total lethal effect after 1 hour of exposure of ladybugs to the bioproduct. The essential oil of orange formulated at 25% as well as the essential oil of lemon tree formulated at 5% at the dose of 100% are repulsive on the adults of *Adonia variegata* goeze. Eureka 1% lemon zest essential oil showed a moderate effect at D1 (100%), while the same 3% formulation resulted in a 50% average repellency. The formulations at 5% and at 1.14% of orange peel did not affect the growth of *C. algerica* L3 larvaestage, but it also caused disturbances in the fertility of *C. algerica* and *A. variegata*.

Key words: Eureka, Valencia late, *Coccinella algerica*, *A. variegata*, essential oils.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة آثار تطبيق العلاج البيولوجي على أساس الزيوت الأساسية المستخرجة من قشور الليمون (يورিকা) والبرتقال (فالنسيا المتأخر) في المنطقة الجنوبية الشرقية من البلدة على سمية، والتنافر والنمو وخصوبة نموذج من الخنفساء الأليفية.

تبلغ نسبة استخلاص الزيوت الأساسية في الزيت العطري 0.15% بالنسبة لبرتقالي (ثمار ناضجة) و 0.061% لعشب الليمون (ثمار خضراء). هذه الزيوت الأساسية المستخدمة في حالة نقية تسبب تأثير فتاك الكلي بعد 1 ساعة من تعرض الخنافس إلى المنتج الحيوي. إن الزيت العطري للبرتقال المصنوع بنسبة 25% وكذلك الزيت العطري لشجرة الليمون المصنوع بنسبة 5% بجرعة 100% مثير للاشمئزاز على البالغين في أدونيا. أظهر زيت يورিকা الأساسي بحماس الليمون 1% تأثير معتدلة في 100 D1 (%، في حين أن تركيبة 3% نفسه أدى إلى متوسط 50% طارد. المستحضرات عند 5% و 1.14% من قشر البرتقال لم يؤثر على نمو يرقات المرحلة L3، ولكنه تسبب أيضًا في اضطرابات في خصوبة.

كلمات البحث: الحمضيات، الليمون فار، زيت يورিকা، الخنفساء الأليفية، زيوت أساسية.

Depuis l'antiquité ; l'agriculture joue un rôle très important dans la civilisation humaine et dans la révolution socio-économique dans le monde entier. La protection phytosanitaire des cultures demeure alors un facteur essentiel pour satisfaire les besoins alimentaires ou énergétiques d'une population mondiale en constante augmentation.

De nos jours, l'utilisation massive des produits phytosanitaires chimiques a conduit essentiellement à l'apparition de bio-agresseurs résistants. La mauvaise réponse pour lutter contre ceux-ci est d'augmenter la quantité et la fréquence d'application du produit phytosanitaire utilisé. De plus, les pesticides chimiques sont non spécifiques, polluants pour l'environnement et très néfastes pour la santé (EKSTROM et EKBOM, 2011).

La contrainte potentielle liée aux traitements chimiques réside également en la perturbation des populations d'insectes bénéfiques qui sont importants dans le processus de régulation naturelle et de lutte biologique, (BELLOWS et *al.*, 1985 ; TRUMPER et HOLT, 1998). HILL et FOSTER (1998) et STANYARD et *al.* (1998), mentionnent que l'utilisation de pesticides à large spectre d'action en vergers engendre des instabilités dans les populations des ennemis naturels prédateurs et parasitoïdes qui sont bénéfiques pour la culture, ce qui a pour conséquence d'augmenter les populations de phytophages. Cette observation a été faite par exemple sur les populations de coccinelles, de syrphes et d'araignées prédatrices après traitement des parcelles de chou avec un insecticide à base d'émamectine benzoate (AMOABENG ET AL, 2013).

L'utilisation comme insecticides des substances naturelles actives à base des extraits botaniques, est connue depuis longtemps (CROSPY, 1966 ; LATEUR, 2002). Les plantes de la famille de Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Labiateae et Canellaceae comptent parmi les principales familles les plus prometteuses comme source de bioinsecticides, (JACOBSEN, 1989). Les biopesticides à base d'huiles essentielles forment une classe de pesticides intéressante puisqu'en étant constituées de plusieurs composés à mécanismes d'action multiples, elles ont des modes d'application variés et plusieurs formulations sont déjà disponibles sur le marché des produits phytosanitaires (CHIASSON ET BELOIN, 2007).

Les biopesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt. Plusieurs sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes ou ordres d'insectes. En étant très peu rémanents, ils peuvent être appliqués jusqu'au moment de la récolte. Les formulations sont stables à la température ambiante et les huiles essentielles brutes peuvent être entreposées pendant plusieurs années. Actuellement, il est possible d'isoler et d'identifier des composés auparavant inconnus; ceci permet le développement de nouveaux mélanges pouvant avoir un effet additif ou synergique, (CHIASSON ET BELOIN, 2007).

Les Rutacées (appelés également Agrumes) donnent des fruits qui sont parmi les plus consommés et contenant de nombreuses glandes à essences odorantes. Les fleurs et les feuilles de l'oranger sont utilisées par exemple en parfumerie et en pharmacopée.

Dans les directives de la FAO sur les données relatives à l'évaluation biologique pour l'homologation des pesticides figurent les éléments de base de l'évaluation biologique dont ceux liés aux effets non intentionnels ou indésirables, par exemple sur les auxiliaires ou autres organismes non visés, sur les cultures suivantes, sur d'autres plantes, ou sur les parties des plantes traitées destinées à la reproduction (semences, boutures, marcottes) (EOPP, 1989). Diverses études s'intéressent depuis les dernières décennies à la protection biologique des cultures d'intérêt ou mineures moyennant l'utilisation des pesticides d'origine botanique et leurs impacts sur la faune globale non cible. Beaucoup d'effort a été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes (KIM ET AL, 2003). Néanmoins, peu de travaux à notre connaissance, sont documentés sur les effets directs ou secondaires sur les coccinellidae prédateurs précisément. Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement. Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs.

Dans notre approche, nous nous sommes intéressés à l'étude comparée de l'effet des huiles essentielles extraites des Citrus vis-à-vis d'un modèle de coccinellidae aphidiphage. Les pucerons ou aphides sont des homoptères ravageurs potentiels de nombreuses cultures plants d'ornement et essences forestières. Ils apparaissent le plus souvent sur la face inférieure des feuilles et sur les jeunes pousses des agrumes. Sous leur action, les jeunes pousses s'enroulent, puis la partie la plus tendre des feuilles prend une forme incurvée. Leurs dégâts sur la partie foliaire des arbres se manifestent par une sécrétion d'exsudat ou miellat sur lequel se développe la fumagine. Certaines espèces aphidiennes sont par ailleurs vectrices de maladies virales. C'est pourquoi une meilleure prise de conscience de l'importance des aphidiphages tant sur leur conservation que sur leur protection s'impose.

Le document de ce mémoire est structuré en deux parties bibliographique et expérimentale. La première partie est une synthèse bibliographique comprenant des données générales sur les coccinelles prédatrices aphidiphages et leur intérêt dans les stratégies de protection biologique ainsi que des généralités sur les huiles essentielles et leur intérêt en phytoprotection. Dans la seconde partie expérimentale structurée en deux parties également, nous avons expliqué notre démarche expérimentale et nous avons analysés nos résultats argumentés par des discussions. Enfin, nous avons terminé notre étude par une conclusion et des perspectives.

## Listes des figures

**Figure 1** : Morphologie externe de *C.septempunctata*(LINNAEUS 1758)

**Figure 2** : Œufs de coccinelle et éclosions des larves.

**Figure 3** : Les quatre stades larvaires.

**Figure 4** : Larve en 4<sup>ème</sup> stade durant l'attachement et prépupe.

**Figure 5** : Nymphes et Pupes finales orange pâle.

**Figure 6** : Adulte après l'émergence.

**Figure 7** : Cycle de vie de *C.septempunctata*.

**Figure 8** : Le citronnier : caractéristique botanique générale et zeste (écorce du fruit).

**Figure 9** : Présentation des caractéristiques botaniques de l'oranger *C. sinensis* et du fruit de l'oranger « Valencia Late ».

**Figure.10** : Les trois stations d'études sur Google Maps.

**Figure 11** : La récolte des coccinelles par la méthode de chasse à vue.

**Figure 12** : La récolte des coccinelles par la méthode du parapluie japonais.

**Figure 13** : Flacons en polystyrène utilisés pour la collecte des coccinelles

**Figure 14** : Elevage des coccinelles dans les boîtes de pétri et les flacons

**Figure 15** : Récolte des fruits d'agrumes du verger d'Ouled Slama (Blida)

**Figure 16** : Étapes d'extraction des huiles essentielles étudiées.

**Figure 17** : Microencapsulation des HE d'oranger

**Figure 18** : Préparation du solvant à base de Tween 80.

**Figure 19** : Préparation des dilutions D1 et D2 à partir de la solution mère formulée de l'HE d'orange.

**Figure 20** : Préparation des formulations et des dilutions à partir de la SMF formulée de l'HE de citronnier.

**Figure 21** : Étapes de l'essai pour l'évaluation de la toxicité des huiles essentielles de zeste d'agrumes étudiées

**Figure 22** : Étapes de préparation pour l'évaluation de l'effet répulsif d'*A.variegata*

**Figure 23** : Étapes de préparation de l'essai de traitement par inhalation.



**Figure 24** :Etapas de préparation de l'essai de traitement par ingestion.

**Figure 25** : Durées des stades de développement de *C. algerica* au laboratoire

**Figure 26** : Microcapsules de l'HE du zeste d'oranger observées à la loupe binoculaire.

**Figure 27**: Adulte de *C.algerica* et individus du puceron *A. nerii* après application de l'huile essentielle pure.

**Figure 28** : Durée de développement des L3 de *C. algerica* sous l'effet de l'application de l'HE d'oranger par inhalation (N= 26 L3).

**Figure 29** :Evolution du taux de répulsion temporel de l'HE formulé à 1% du citronnier sur les adultes d'*A. variegata* au laboratoire.

**Figure 30** : Evolution du taux de répulsion temporel de l'HE formulé à 3% du citronnier sur les adultes d'*A. variegata* au laboratoire.

**Figure 31** : Evolution du taux de répulsion temporel de l'HE formulé à (%) du citronnier sur les adultes d'*A. variegata* au laboratoire.

**Figure 32** : Evolution de taux de répulsion temporelle des adultes pour les 3 formulations d'huile d'orange.

**Figure 33** : Analyse comparative de l'effet de répulsion des huiles essentielles étudiées (ANOVA, GLM, Systat vers.12).

## Liste des tableaux

**Tableau 1** : Description des différents stades biologiques de *C. Septempunctata*

**Tableau 2** : Aperçu sur les ennemis naturels des coccinellidae prédateurs

**Tableau 3** : Liste des huiles essentielles autorisées en Europe et des utilisations autorisées en France.

**Tableau 4** : Taux des constituants les plus importants des huiles essentielles issues des peaux de fruits d'Agrumes.

**Tableau 5** : les dates de la récolte des coccinelles.

**Tableau 6** : Diamètres de microcapsules mesurés selon le temps de séchage.

**Tableau 7a** : Effet de l'huile essentielle pure d'oranger sur les adultes de *C. algerica*.

**Tableau 7b** : Effet de l'huile essentielle pure de citronnier sur les adultes de *C.*

**Tableau 8** : Fécondité des deux espèces de coccinelles étudiées sous l'effet des HE formulées de l'oranger au laboratoire.

**Tableau 9a** : Classes de répulsion des doses et des dilutions des solutions huileuses formulées du zeste d'oranger.

**Tableau 9b**: Classes de répulsion des doses et des dilutions des solutions huileuses formulées du zeste de citronnier.

**Tableau 10** : Résultats de l'analyse de variance (ANOVA) sans interactions relatifs à la comparaison des taux de répulsion des solutions huileuses étudiées (Modèle GLM, Systat. Vers. 12).

## **Liste des abréviations**

**He : huile essentielle**

**INFSP : l'Institut National Spécialisé en Formation Professionnelle de Bougara**

**L : Larve**

**Ny: Nymphe**

**Ad : Adulte**

**PR : Pourcentage des répulsions**

**D : Dose**

## Table de matières

RESUME

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre1 : Synthèse bibliographique,Généralités sur les Coccinellidae prédateurs.</b>	<b>4</b>
<b>1. Généralités sur les coccinellidae prédateurs.....</b>	<b>4</b>
1.1. Introduction.....	4
1.2. Taxonomie.....	4
1.3. Morphologie.....	4
1.4. Les différents stades du développement de <i>Coccinellaseptumpunctata</i> .....	5
1.5. Cycle biologique et nombre de générations.....	7
1.6. Le régime alimentaire de C.Septempunctata.....	8
1.7. Ennemis naturels.....	9
1.8. Importance de <i>CoccinellaSeptempunctata</i> et autres coccinellidae.....	10
prédateurs en tant qu'agent de contrôle biologique	
1.10. Impact sur la biodiversité et valeur économique.....	11
<b>Chapitre 1 : Généralités sur les huiles essentielles.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Généralités sur les huiles essentielles.....</b>	<b>11</b>
2.1. Définition.....	12
2.2. Localisation .....	12
2.3. Composition chimique .....	12
2.4. Procédés d'extraction .....	12
2.5. La toxicité des huiles essentielles.....	13
2.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	13

2.7. Liste des huiles essentielles autorisées en Europe et des utilisations autorisées en France.....	13
2.8. Présentation des espèces d'agrumes étudiées et leurs principes actifs.....	13
2.3.1. Le citronnier <i>Citrus limon</i> .....	14
2.3.2. L'orange <i>Citrus Sinensis (L.)</i> et ses principes actifs.....	16
<b>Chapitre 2 : matériels et méthodes.....</b>	<b>15</b>
2.1. Rappel sur les objectifs de l'étude.....	15
2.2. Présentation de la zone d'étude.....	15
2.4. Méthodologie utilisée sur le terrain pour la récolte des coccinelles.....	19
2.4.1. Chasse à vue classique.....	19
2.4.2. Le parapluie japonais.....	20
2.5. Méthodologies adaptées au laboratoire.....	21
2.5.1. Elevage des coccinelles au laboratoire.....	21
2.5.2. Méthodologie d'extraction des huiles essentielles.....	22
2.5.3. Essai de formulation de l'huile essentielle d'oranger par microencapsulation.....	24
2.5.4. Préparation des formulations et des doses des huiles essentielles d'oranger et de citronnier.....	25
2.5.5. Evaluation de la toxicité des Huiles essentielles de l'oranger et du citronnier.....	28
2.5.6. Etude de l'effet répulsif des Huiles essentielles de citronnier et d'oranger sur les adultes d' <i>A. variegata</i> .....	<b>28</b>
2.5.7. Essais de traitements à base des solutions d'HE formulées au laboratoire....	29
2.5.7.1. Essais de traitements par inhalation.....	30
2.5.7.2. Essais de traitements par ingestion.....	30
2.6. Paramètres étudiés.....	31
2.6.1. Evaluation du rendement en huiles essentielles extraites des zestes.....	31
2.6.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles étudiées.....	32
2.6.3. Evaluation du taux de répulsion des huiles essentielles étudiées.....	32

2.6.4. Evaluation des effets par inhalation et par ingestion des huiles essentielles étudiées.....	32
<b>Chapitre 3 : Résultats et discussion générale.....</b>	<b>34</b>
3.1. Résultats des durées de développement de <i>C. algerica</i> dans les conditions d'élevage au laboratoire.....	34
3.2. Rendements obtenus en huiles essentielles.....	35
3.3. Formulation de l'huile essentielle d'oranger par microencapsulation.....	35
3.4. Etude de la toxicité des huiles essentielles étudiées.....	36
3.5. Etude de l'effet des traitements à base des solutions formulées des huiles essentielles étudiées sur la durée de développement larvaire.....	37
3.5.1. Effet de l'huile essentielle d'oranger par inhalation sur les larves de <i>C. algerica</i> .....	37
3.5.2. Effet de l'huile essentielle d'oranger par ingestion sur la fécondité des adultes de <i>C. algerica</i> et <i>A. variegata</i> .....	37
3.6. Etude de l'effet répulsif des solutions huileuses des zestes d'oranger et de citronnier.....	39
3.6.1. Etude de l'effet répulsif des solutions huileuses des zestes du citronnier.....	39
3.6.2. Etude de l'effet répulsif des solutions huileuses des zestes de l'oranger.....	41
3.6.3. Classes de répulsion des solutions huileuses des zestes de l'oranger et du citronnier.....	41
3.6.4. Analyse comparative des effets répulsifs des solutions huileuses étudiées à l'égard d' <i>A. variegata</i> .....	43
<b>3.7 Discussion générale.....</b>	<b>43</b>
3.7.1. Le rendement des huiles essentielles des espèces d'agrumes étudiées.....	44
3.7.2. Effet des produits biologiques testés.....	44
3.7.3. Evaluation de l'effet des traitements à base des huiles essentielles du citronnier et d'orange sur <i>C.algerica</i> .....	45
<b>4.Conclusion.....</b>	<b>48</b>

### 1. Généralités sur les coccinellidae prédateurs

#### 1.1 Introduction

Les Coccinellidae (Latreille, 1807), sont une famille d'insectes de l'ordre des coléoptères, appelés aussi coccinelles, ou encore familièrement ou régionalement bêtes à bon Dieu.

Ce taxon monophylétique (Magro et al, 2010) regroupe environ 6000 espèces réparties dans le monde entier, (Kovar, 2005 ; Chazeau et al, 1990). Les coccinelles sont classées, d'après leur régime alimentaire, en insectes polyphages (phytophages, prédateurs aphidiphages ou coccidiphages), ce qui est un des facteurs principaux de leur succès évolutif. La famille des Coccinellidae comprend des espèces de coléoptères avec des habitudes entomophages qui sont considérés d'importance économique dans le contrôle des populations d'insectes.

Les espèces appartenant au genre *Coccinella* ont été signalées comme prédatrices de diverses espèces de ravageurs. L'espèce *Coccinellaseptempunctata* L., est rapportée comme étant un excellent ennemi naturel de pucerons, ce qui explique son utilisation dans les programmes de contrôle biologique principalement contre les espèces aphidiennes qui attaquent les cultures de pommes de terre, maïs, sorgho, luzerne, blé et noix.

#### 1.2. Taxonomie générale

Les Coccinelles font partie du Domaine: Eukaryota, Royaume: Metazoa, Phylum: Arthropoda, Subphylum: Uniramia, Classe: Insecta, Ordre: Coleoptera, Sous-ordre Polyphaga, Infra-ordre : Cucujiformia, Super-famille : Cucujoidea

#### 1.3. Morphologie

Les coccinelles sont relativement difficiles à caractériser au niveau de la famille. Elles se présentent sous quelques formes peu caractéristiques et les critères morphologiques confirmant leur appartenance à cette famille sont parfois difficilement visibles à l'œil nu (VANDENBERG, 2002). Les coccinelles se différencient des autres Cucujoidea par les palpes maxillaires dont le dernier segment est sécuriforme.

A titre d'exemple ; nous donnons la description de la coccinelle aphidiphage *Coccinellaseptempunctata* (la coccinelle à 7 points) (Figure 01). Ce petit insecte mesure entre 5 et 8 mm. Elle est ronde et bombée, brillante et lisse, pourvue de courtes pattes munies de petits crochets. Ses courtes antennes lui servent à

s'orienter. Le pronotum est noir avec deux tâches blanches. Ses élytres sont rouges avec sur chacune d'elles 3 points noirs plus un point sur la jonction des deux ailes, Les adultes possèdent des glandes répulsives sécrétant une substance orangée malodorante destinées à faire fuir les prédateurs.

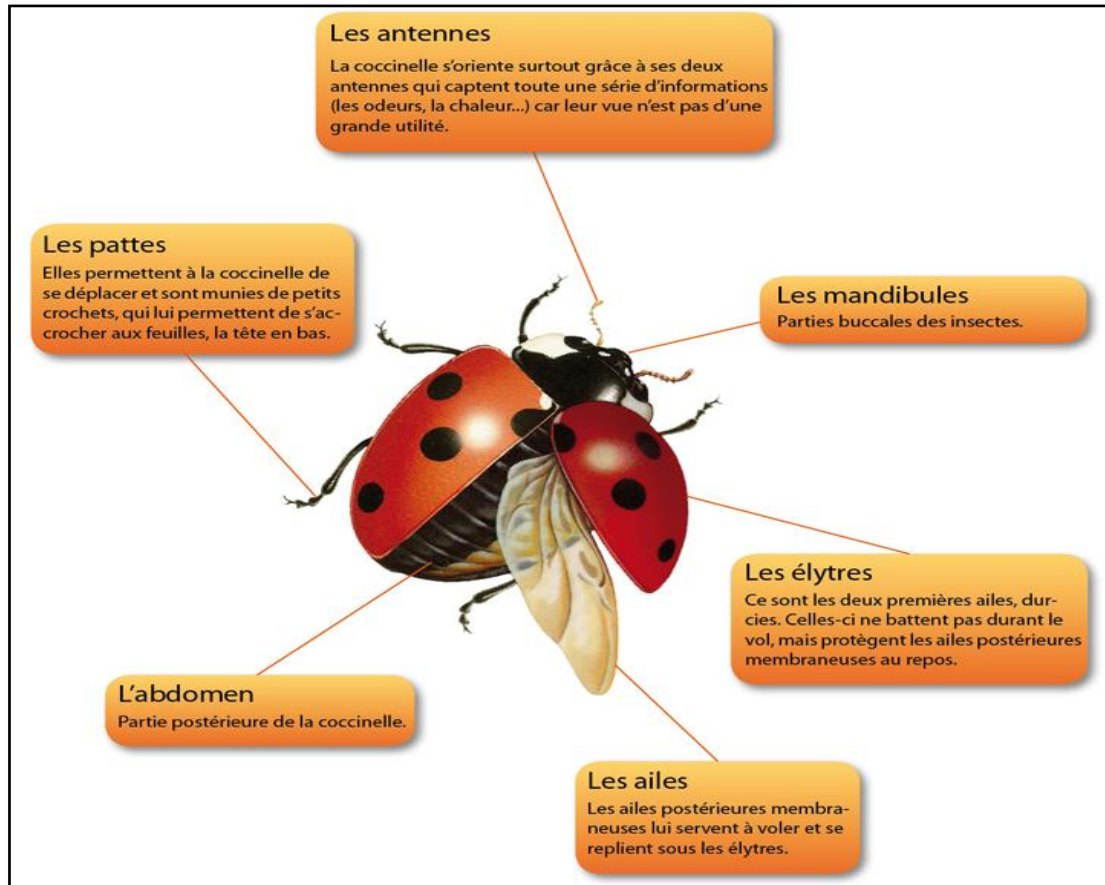


Fig.01 : Morphologie externe de *C.septempunctata*(LINNAEUS 1758) (COUTENCEAU, 2014).

### 1.4. Les différents stades du développement de *Coccinellaseptumpunctata*


La description des différents stades préimaginaux de l'espèce aphidiphage *C. septempunctata* est présentée dans le tableau 1.











Au printemps, le mâle et la femelle s'accouplent. Au moment de la ponte, la femelle choisit une feuille envahie de pucerons et s'y installe pour pondre ses œufs généralement placés par groupes de 10 à 30, de préférence dans le feuillage où les colonies de pucerons. Il a également été observé que la femelle a la capacité d'éviter la ponte chez les plantes où se trouvent des larves de coccinelles (HEMPTINNE et al, 1994).

Les larves sont de couleur bleu métallique et peuvent dévorer plusieurs centaines de pucerons pendant les 3 semaines que dure leur développement.



Tableau 01 : Description des différents stades biologiques de *C. Septempunctata*

<p>Les œufs sont allongés, ovales et pondus sur les plantes (figure 02), souvent près des proies. Elles prennent environ 4 jours à éclore (Figure 02), bien que l'augmentation de la température ambiante réduise la durée du stade de l'œuf; à 15 ° C, l'éclosion prend 10,3 jours, contre 1,8 jour à 35 ° C (MAJEURS et KEARNS, 1989)</p>	 <p>Fig.02 : Œufs de coccinelle et éclosions des larves</p>
---	---

<p>La larve comprend quatre stade (figure 03) la durée et la taille varient selon les espèces et la température. Elle présente une morphologie assez comparable. Corps allongés hérissé de tubercule en relief et munie de longues pattes. Tête hypognathe transversale, sétifère, légèrement rétrécie à ces deux extrémités.</p>	<div style="display: flex; flex-wrap: wrap; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>L1</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>L2</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>L3</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>L4</p> </div> </div> <p style="text-align: center;">Fig.03 : les quatre stades larvaire Source original 2019</p>
<p>La larve du quatrième stade ne se nourrit pas pendant au moins 24 heures avant la nymphose (figure 04). La pointe de l'abdomen est attachée au substrat de la plante; il est immobile et penché. C'est l'étape de la pré-pupe. (figure 04). Le stade pupal dure 8,4 jours. Ce stade n'est pas complètement immobile car il est capable de soulever et d'abaisser la région antérieure en réponse au danger perçu (Majerus et Kearns, 1989 ).(figure 05)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p style="text-align: center;">Fig .04 :larve en 4<sup>ème</sup> stade durant l'attachement et prépupe, Site internet</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p style="text-align: center;">Fig .05 : Nymphe original 2019 et Pupe finale orange pale. Site internet</p>
<p>La pupe se scinde pour permettre à l'adulte d'émerger. À leur apparition, les ailes et les élytres sont très mous et à peine pigmentés avec une couleur jaune pâle (figure 06). La coloration se développe avec le temps et la couleur rouge du fond s'intensifie au cours des semaines et des mois, (figure10). Les couleurs sombres proviennent des mélanines et les plus claires des carotènes (Majerus et Kearns, 1989 ).</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <p style="text-align: center;">Fig.06 : Adulte après l'émergence, originale 2019</p>

### 1.5.Cycle biologique et nombre de générations

La majorité des coccinelles sont actives entre le mois de mai et juillet, c'est aussi la période de multiplication (reproduction) de toutes les coccinelles (SAHARAoui, 1994). Leur cycle de développement comprend 4 stades larvaires séparés du stade

adulte par un stade nymphal (SAHARAOU, 1998) (figure 07). La durée du cycle dépend des conditions climatiques (température, humidité relative et photopériode) et de l'abondance de la nourriture, et dure un mois environ chez la plupart des coccinelles, (IPERTI, 1986). Dans un cycle on peut rencontrer jusqu'à trois générations par an.

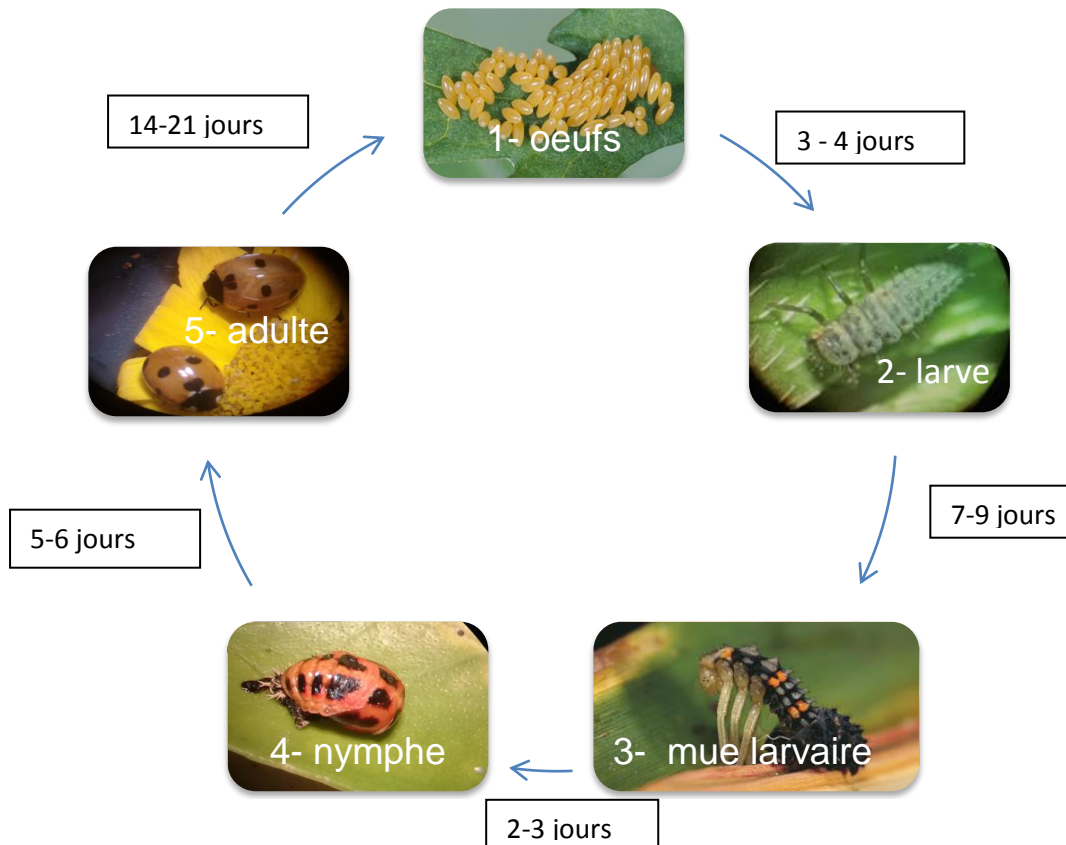


Fig .7 :Cycle de vie de *C. septempunctata*.

### 1.6. Le régime alimentaire de *C.septempunctata*

L'espèce *C. septempunctata* est capable de se développer sur une large gamme de pucerons. MAJERUS ET KEARNS, (1989) et HODEK ET HONEK (1996) affirment que plus de 20 espèces de pucerons sont une proie essentielle pour cette coccinelle. Au laboratoire, la consommation quotidienne moyenne de pucerons a été enregistrée: 32 individus de *Hyalopteruspruni*, 41 de *Schizaphisgraminum*, 134 à 250 individus de *S. graminum* ont été consommés par larve (VARVARA et al. 1982). SATTAR et al. (2008) ont rapporté que la consommation moyenne d' *Aphisgossypii* par *C. septempunctata* adulte était de 77,8 pucerons  $\pm$  5,15 et que 21,9 ; 55,9 ; 107,4 et 227,3 pucerons étaient consommés par une seule larve au

cours des 1<sup>er</sup>, 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> stades, respectivement. Lorsque les proies des pucerons (*Acyrtosiphon pisum*) ont été retirées, KAJITA ET EVANS (2009) ont montré que *C. septempunctata* réduisait la ponte.

Ces auteurs suggèrent que les réactions rapides aux changements dans la disponibilité des proies démontrées par *C. septempunctata* contribuent à la plus grande abondance et au succès reproducteur de cette espèce.

Les coccinellidaeaphidiphages tels que *C. septempunctata* se nourrissent d'autres types d'aliments. TRILTSCHE (1999) a découvert des spores de champignons (principalement des conidies d'*Alternaria*), du pollen et des thrips, ainsi que d'autres arthropodes.

DIXON ET GUO (1993) ont déterminé les effets directs et indirects de l'abondance des pucerons sur la taille des œufs de *C. septempunctata*. Il a été constaté que lorsque la disponibilité des proies variait, le nombre d'œufs produits par jour avait tendance à varier, mais pas la taille des œufs. Il a également été démontré que la densité de l'hôte avait un effet important sur la consommation de pucerons à tous les stades larvaires. SOLANGI et al. (2007) ont constaté que la consommation de larves de *C. septempunctata* augmentait de manière significative avec l'augmentation de la densité du puceron de la moutarde, *Lipaphis erysimi*.

### 1.6. Ennemis naturels

Divers prédateurs et parasitoïdes ont été répertoriés attaquant *C. septempunctata* ; MAJERUS (1994) . En raison de la taille relativement grande d'une larve de *C. septempunctata*, celle-ci peut contenir jusqu'à six *Homalotyluseytelweini* (MAJERUS ET KEARNS, 1989) . (Tableau 02).

Tableau 02 : Aperçu sur les ennemis naturel descoccinellidae prédateurs

Ennemi naturel	Type	Les étapes de la vie	Références
<i>Araneus diadematus</i>	Prédateur		Majerus, 1994
<i>Araneus quadratus</i>	Prédateur		Majerus, 1994
<i>Beauveria brongniartii</i>	Agent pathogène		Ghazavi et al., 2005
<i>Dinocampus coccinellae</i>	Parasite	Adultes	Hodek, 1973
<i>Gregarina Dasguptai</i>	Agent pathogène		

<i>Hesperomycesvirescens</i>	Agent pathogène		Harwood et al., 2006
<i>Hexamermis</i>	Parasite		Rubtsov, 1971
<i>Homalotyluseytelweinii</i>	Parasite	Larves	Majerus et Kearns, 1989
<i>Homalotylusflaminus</i>	Parasite	Larves	Myartseva, 1981
<i>Oomyzusscaposus</i>	Parasite	Larves	Majerus et Kearns, 1989
<i>Pachyneuronsolitarium</i>	Parasite		
<i>Paecilomycesfarinosus</i>	Agent pathogène	Adultes	Pacioni et Frizzi, 1977
<i>Philodromuscespitem</i>	Prédateur		
<i>Phalacrotophoraberolinensis</i>	Parasite	Chrysalides	Disney et al., 1994

### 1.7. Importance de *CoccinellaSeptempunctata*et autres coccinellidae prédateurs en tant qu'agent de contrôle biologique

La coccinelle la plus connue est *Coccinellaseptempunctata*. *Adalia* (*Adalia*) *bipunctata* est aussi fréquemment rencontrée comme *Propyleaquatuordecimpuncta*. Ces trois espèces sont surtout utiles contre les pucerons. D'autres coccinelles sont intéressantes en lutte biologique, par exemple le genre *Chilocorus* plutôt consommateur de cochenilles, ainsi *Chilocorusbipustulatus* (Linnaeus 1758) est utile contre les cochenilles Diaspididae de même que *Clitostethusarcuatus* (Rossi 1794) qui se nourrit d'aleurodes.

Les genres *Scymnus* et *Nephus* sont des prédateurs de cochenilles et de pucerons alors que *Stethoruspusillus* (Herbst 1797) (ancien nom *S. punctillum*), espèce de petite taille est consommatrice d'acariens. *Exochomus quadripustulatus* est une espèce polyphage principalement prédatrice de pucerons et cochenilles mais qui peut aussi consommer des acariens, du pollen et du nectar.

*Rodoliacardinalis* (Mulsant 1850), coccinelle australienne a été le premier exemple d'utilisation d'une Coccinellidae en lutte biologique et ce contre la cochenille australienne (*Iceryapurchasi*) dès le XIXème siècle.

*C. septempunctata* a été utilisé avec succès dans programmes de contrôle biologique des pucerons, principalement en Europe et en Asie; à cause de sa valeur en tant que régulateur des populations de pucerons, cette l'espèce a été introduite aux États-Unis en 1956; dans ce pays, cette espèce a un impact économique significatif en réduisant les populations de pucerons. Certaines des caractéristiques qui le confèrent comme un bon agent de contrôle sont :

- Capacité prédatrice élevée.

- Adaptation aux différents climats.
- L'adulte a la capacité de survivre longtemps périodes de consommation de nectar et de pollen, qui implique qu'il ne migre pas quand proie.

### 1.8.Impact sur la biodiversité et valeur économique

HODDLE (2004) indique que *C. septempunctata* a influencé la distribution et l'abondance des concurrents coccinellidae indigènes en réduisant leur survie dans les habitats locaux, en influant sur la dynamique de dispersion et l'utilisation de l'habitat.

*C. septempunctata* a été largement introduit en tant qu'agent de lutte biologique pour lutter contre les pucerons dans des conditions de serre (par exemple, YARKULOV, 1978 ; VALERIO et al., 2007 ). La capacité de *C. septempunctata* à réguler et à contrôler les pucerons sur le terrain a été bien documentée, souvent dans le cadre d'un complexe d'ennemis naturels (SHANTHI et al., 2009 ). Il est souvent considéré comme un ennemi naturel se produisant sur le terrain dans une grande variété de cultures, telles que les grenadiers (ÖZTÜRK et al, 2005), les cerisiers (*Prunus Crassus*) (ÖZKAN et al., 2005) et les champs de moutarde, ( VEKARIA ET PATEL, 2005 ), et l'arachide ( SAHAYARAJ ET MARTIN, 2003 ) et le haricot ( *Vicia faba minor*) ( SADEJ, 2000 ).

La capacité de *C. septempunctata* à réduire les populations de pucerons dans des conditions naturelles sur le terrain et dans des environnements protégés est largement reconnue et cette espèce a été largement introduite en tant qu'agent de lutte biologique. Ullah (1977) a étudié les effets des pesticides pour contrôler *A. gossypii* sur *C. septempunctata* et a découvert que le monocrotophos était très toxique pour les prédateurs. De même, Ahmad et al. (2009) ont signalé que le fenazaquin et le quinalphos étaient très toxiques pour les adultes de *C. septempunctata*.

## 2. Généralités sur les huiles essentielles

### 2.1. Définition

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Elles contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes. Ces essences aromatiques sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (BRUNETON, 1999).

Pour PADRINI ET LUCHERONI, (1996), les huiles essentielles (HE) appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de

nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal,elles sont odorantes et très volatiles.

### **2.2. Localisation**

Les HE peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, dans les fleurs les feuilles, les rhizomes, les fruits,les racines,les graineset moinsdans des écorces(YAHYAOUI, 2005) ; (BRUNETTON, 1987).

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plantes. (BOUAMER et al, 2004). La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de poils sécréteurs et decanaux sécréteurs qui existent dans de nombreuses familles botaniques. D'après BELKOU et al,2005),une même espèce peut renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante.

### **2.3. Composition chimique**

Les HE sont constitués principalement de deux groupes de composés odorants distincts les mono et les sesquiterpènes, et descomposés aromatiques dérivés du phénylpropane(KURKIN, 2003).

### **2.3. Procédés d'extraction**

La majorité des HE sont obtenus par distillation par entrainement à la vapeur d'eau sous basse pression. Le procédé consiste à faire traverser par de la vapeur d'eau une cuve remplie de plantes aromatiques. A la sortie de la cuve de distillation et sous pression contrôlée, la vapeur d'eau enrichie d'HE traverse un serpentín où elle se condense. A la sortie, un essencier (appelé autrefois vase florentin) recueille l'eau et l'huile essentielle.La différence de densité entre les deux liquides permet une séparation aisée de l'HE recueillie par débordement. D'autres procédés d'extraction (par enfleurage, par solvant) ont été décrits (ZIHRI ET BAUDOUX,2005).

### **2.4. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation.De plus en plus populaire, il tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie.

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde(SMITH et al, 2000) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines(NAGANUMA et al, 1985).

Les HE contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. Ce sont : Cannelle de Ceylan, Basilic exotique, Menthe, Clou de girofle, Niaouli, Thym à thymol, Marjolaine, Sarriette. (MEYNADIER, RAOSON ET PEYRON, 1997). Les cétones comme l' $\alpha$ -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (FRANCHOMME et al, 1990).

L'administration de 2g de menthol (extrait HE Menthe) est mortel et 10 g d'eucalyptol peut également entraîner la mort. Il est donc indispensable que les huiles essentielles soient particulièrement diluées pour éviter tout accident, (VASSART, 2009).

### 2.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Différents secteurs utilisent les HE à l'état naturel ou sous forme d'isolats (substances pures isolées d'HE) tels que le pinène, la scarole, le linalol, le citral, le safrol, comme matière première pour la synthèse des principes actifs des médicaments, des vitamines, des substances odorantes, des parfums et des produits de cosmétologies. Elles sont donc utilisées dans plusieurs domaines : en thérapeutique, en parfumerie ou cosmétologie, en agro-alimentaire (BRUNETON, 1993 ; HUARD, 1999 ; GAUCHER –LUSSON, 2001 ; MULLER, 2003).

### 2.7. Liste des huiles essentielles autorisées en Europe et des utilisations autorisées en France

Nous donnons dans le tableau 3 des indications sur les différentes huiles essentielles autorisées en Europe et celles d'autorisation française.

D'après le tableau 3, l'huile essentielle d'orange douce est autorisée en tant qu'insecticide en Belgique, à Chypre et en France.

En France, le bioinsecticide commercialisé à base d'HE d'orange douce est utilisé sur les cultures fruitières et légumières, les cultures ornementales et plantes aromatiques ainsi que sur le tabac et la vigne. Cet insecticide (LIMOCIDE/PREV-AM) est utilisé contre les aleurodes et cicadelles ainsi que les thrips mais aussi contre l'oidium et le mildiou.

Tableau 03 : Liste des huiles essentielles autorisées en Europe et des utilisations autorisées en France. (EU.pesticides data : base, 2009).



Substance active =huile essentielle de :	Autorisée en tant que	Pays d'autorisation	Autorisations française		
			Produit commercial	cultures	Usage
Orange douce	Insecticide	Belgique, chypre, France	LIMOCIDE/PREV-AM	-Cultures fruitières - Cultures légumières - Cultures ornementales -PPAM - Tabac- Vigne	Aleurode - Cicadelle - Oidium - Rouille blanche - Thrips du tabac - Mildiou

## 2.8. Présentation des espèces d'agrumes étudiées et leurs principes actifs

### 2.8.1. Le citronnier *Citrus limon* (L.) Burman

L'appartenance taxonomique du citronnier est la suivante :

- ❖ **Règne** :Plantae
- ❖ **Division** :Magnoliophyta
- ❖ **Classe** :Magnoliopsida
- ❖ **Ordre** :Terebenthales
- ❖ **Famille** :Rutaceae
- ❖ **Genre** : Citrus

La feuille de citronnier est persistante, elle est de couleur verte brillante sur la face supérieure et peu nervurée. Les fleurs se situent en bouquets sur les rameaux et à l'aisselle des feuilles. Le fruit (citron) est une baie limoniforme (ovoïde) de 5 à 10 cm, les pépins sont fusiformes de couleur blanche, ils proviennent de deux rangs d'ovules et sont le plus souvent exalbumés.

La peau du citron est appelée écorce ou zeste. Elle est brillante et d'une couleur verte au jaune selon la maturité du fruit. Elle est utilisée pour son arôme et son amertume dans les préparations culinaires et pharmaceutiques ou en parfumerie.

Les variétés de citronnier les plus exploitées sont sélectionnées selon le rendement en fruits, la qualité du jus de citron et la résistance de l'arbre. Les principales variétés de *Citrus limon* (L.) Burman sont : Eureka (citronnier 4 saisons), Lisbon, Femminello, Monachello et Verna.

Le Citronnier des 4 saisons est le citronnier le plus fructifère. Il produit en abondance des fleurs et des fruits sur le même plant toute l'année. Son feuillage persistant et aromatique est comestible, comme les fleurs blanches. Avec sa croissance rapide, cette variété d'agrumes produit facilement et rapidement de nouvelles jeunes feuilles qui sont de couleur brune. La peau lisse est très riche en huiles essentielles.

Les principes actifs du zeste de citron sont composés par une fraction volatile et une fraction non volatile (FRANCHOMME, 2017).

### Fraction volatile

- Monoterpènes :

-limonène (54-72 % et jusqu'à 80 %),  $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinènes (0,7 % et 2,9-14 %), paracymène (0,3-1,1 %),  $\alpha$ - et  $\beta$ -phellandrènes (0,2 % et 0,8 %), terpinolène (0,6-1,2 %)

- Sesquiterpènes :  $\beta$ -bisabolène (2,5-4 %)
- Alcoolsaliphatiques. : hexanol, octanol, nonanol, décanol, 3-hexène-1-ol, n-heptanol
- Aldéhydes (2-3 %) : hexanal, heptanal (0,04 %), octanal (0,15 %), nonanal (0,07-0,3 %), gèranial (0,6 %)
- Coumarines et furocoumarines (> 1,5 %) : scopolétine, ombellifèrone, bergamottine, bergaptole, bergaptène, citroptène, 8-géranoxy-psoralène, 5-géranoxy-8-méthoxypsoralène

Le limonène (60 à 75%) représente un composé majoritaire accompagné de  $\beta$ -pinène (11à 13%) et de  $\gamma$ -terpinène (8 à 10%) (HAUBRUGE et *al.*, 1989).

**Fraction non volatile (environ 2 à 4 %)** flavonoïdes, caroténoïdes, stéroïdes ; coumarines



**Fig.08** : Le citronnier : caractéristiques botaniques générales et zeste (écorce du fruit) (Source Wikipédia)

### 2.8.2. L'oranger *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, 1765 et ses principes actifs

L'espèce *Citrus sinensis* présente la classification systématique suivante :

- ❖ Règne : Plantae
- ❖ Classe : Equisetopsida
- ❖ Sous-classe : Magnoliidae
- ❖ Super-ordre : Rosanae
- ❖ Ordre : Sapindales
- ❖ Famille : Rutaceae
- ❖ Genre : Citrus

L'oranger est un agrume très décoratif, pouvant atteindre 10 mètres environ, avec un feuillage vert sombre persistant. Les fruits sont de forme et de coloration variable suivant les variétés, (FARHAT et al, 2010). C'est une baie charnue contenant des pépins et dont l'épiderme (zeste) contient de nombreuses glandes à essences.

Les orangers peuvent être considérés comme des plantes médicinales. On utilise en phytothérapie des extraits de leurs fleurs, de leurs feuilles et de leurs fruits et en aromathérapie les huiles essentielles distillées à partir des fleurs, des feuilles et des jeunes rameaux, des écorces des fruits (huile essentielle d'orange).

On distingue de nombreuses variétés d'orange douce. Certaines variétés sont sans pépin comme par exemple l'orange Navel, d'autres ont une chair rouge comme les oranges sanguines.

L'orange de Valence (Valencia late) ou de Murcie (Espagne) (fig. 09), variété tardive est une orange douce utilisée pour la production de jus d'orange. D'après COLOMBO (2004), l'orange douce «Valencia Late» est une espèce originaire du Viêt Nam, d'Inde et de Chine méridionale.



**Fig.09** : Présentation des caractéristiques botaniques de l'oranger *C. sinensis* et du fruit de l'oranger Valencia Late

D'après BOUSBIA (2011), l'huile essentielle de zeste d'orange contient majoritairement des monoterpènes dont 83 à 90% de Limonène suivis par des esters (2,9% de l'huile), des aldéhydes (1,8% de l'huile) et enfin des aldéhydes et des alcools) (Tableau 04).

Tableau 04 : Taux des constituants les plus importants des huiles essentielles issues des peaux de fruits d'Agrumes (Source BOUSBIA, 2011)

Constituants	HE zeste d'Orange
<b>Monoterpènes</b>	<b>89 – 91 (% de l'huile)</b>
(Total)	
d-limonène	83 – 90
<b>Hydrocarbures</b>	
α-pinène	0,5

## Chapitre 1 :Synthèse bibliographique

---

$\beta$ -pinène	1,0
Myrcène	2,0
$\gamma$ -terpinène	0,1
p-cymène	-
<b>Aldehydes</b>	<b>1,8 (% de l'huile)</b>
Heptanal	3,0 % des aldéhydes
Octanal	39,0
Nonanal	5,0
Décanal	42,0
Citral	0,05 – 0,2 (% de l'huile)
<b>Alcools</b>	<b>0,9 (% de l'huile)</b>
Octanol	2,8
Décanol	-
Linalol	5,3 (% de l'huile)
<b>Esters</b>	<b>2,9 (% de l'huile)</b>

---

Les composantes des pesticides chimiques ne permettent pas de sélectionner les insectes cibles, elles affectent toutes les espèces avoisinantes ce qui provoque entre autres la destruction d'insectes utiles (entomofaune auxiliaire ou non cible), favorisant ainsi un déséquilibre de la chaîne alimentaire et la pullulation d'un certain nombre de ravageurs reconnus comme secondaires, (SELLAMI et al. 2015).

Cette étude nous a permis de mettre en évidence les effets des huiles essentielles des zestes de citronnier et d'oranger à l'égard des espèces de oocinellidaeaphiphages étudiées (*Coccinellaalgerica*Kovar et *Adoniavariegata*Goeze) au laboratoire. Les risques de toxicité et leurs effets existent envers les coccinelles en tant qu'insectes utiles, il est important d'établir une méthodologie permettant d'évaluer correctement cette contrainte au laboratoire, pour nous munir d'une stratégie de prévention dans le contexte pratique à travers l'utilisation de produits biologiques. Les effets observés peuvent varier en fonction de l'importance des insectes auxiliaires, du produit et de la dose utilisés, de la fréquence et de l'opportunité du traitement.

L'utilisation des biopesticides dans le cadre de la lutte intégrée est le plus souvent indispensable pour assurer une production abondante, régulière et de qualité. Les insecticides sont élaborés pour tuer les ravageurs. Cependant, la façon de les utiliser n'est pas toujours compatible avec les activités des abeilles et des parasitoïdes, et peut perturber leurs actions.

L'analyse bibliographique des effets sublétaux des insecticides montre que les bioinsecticides risquent de modifier les équilibres écologiques. Tout ceci démontre le besoin de certaines précisions sur les différentes méthodologies appliquées lors des évaluations des effets sublétaux pour approfondir les connaissances dans ces domaines, quand il est nécessaire d'appliquer les plus faibles doses induisant l'effet biocide souhaité chez l'organisme nuisible et une reprise biocénotique chez l'organisme auxiliaire avec de faibles conséquences sur ces traits de vie majeurs.

Nous avons contribué à déterminer la toxicité aiguë chez *C. algeria*. Compte tenu de l'importance et l'efficacité des coccinelles en tant qu'auxiliaires des plantes.

Nos résultats ont montré que l'application des huiles pures des zestes de l'oranger et du citronnier induisent une toxicité traduite par un effet létal total après une heure d'exposition vis à vis des proies et des adultes eux-mêmes ainsi qu'une perturbation des pontes.

D'autres recherches doivent être effectuées comme l'évaluation de l'importance des coccinelles dans l'amélioration de la production, et les effets de traitements sur les coccinelles en plein champ. Toutefois, l'évaluation de la toxicité des biopesticides sur les insectes non cibles en laboratoire telle que nous l'avons réalisée dans ce travail, ne peut pas encore être envisagée en routine en Algérie.

## A

Abdallaoui R., 2018 - La microencapsulation des huiles : meilleure approche pour la valorisation des produits alimentaires ? Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Mohamed V Rabat (Maroc), 138p.

AFNOR, (1998). Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.

Ahmad MM, Ahmad SB, 2009. Toxicité comparative de deux pesticides pour des adultes de *Coccinellaseptempunctata* Linn. (Coleoptera: Coccinellidae). *InsectEnvironment*, 14 (4): 187-189.

Amoabeng B. W., Gurr G.M., Gitau C.W., Nicol H.I., Munyakazi L., Stevenson P.C., 2013- Tri-Trophic Insecticidal Effects of African Plants against Cabbage Pests. *PLOS ONE*, Volume 8, Issue 10, 10p.

## B

Ben Halima-Kamel M. (2005). Biological control of *Aphisgossypii*pepper plant using *Coccinellaalgerica*. *Comm. Appl. Biol. Sci. GhentUniversity* 70/4, p. 737-743.

Ben Halima-Kamel M. - (2006). Utilisation des différents stades biologiques de *Coccinellaalgerica*Kovàr dans la lutte contre *Aphisgossypii* Glover en serre de piment. CIFE VI du 2 à 6 juillet. Rabat, Maroc.

Ben miri, Y., Arino, A., Djenane, D. (2018). Study of antifungal, antiaflatoxic, antioxidant activity and photo toxicity of Algerian *Citrus limon* var. eureka and *Citrus sinensis* var. Valencia essential oils, *journal of essential oil bearing plants*, 21:2,345-361.

Bouberka W., Boucheta K. 2018- Evaluation in vitro des activités antioxydante et antibactérienne et caractérisation de l'huile essentielle de l'écorce de citron (*Citrus lemon* L.). Mémoire de fin de cycle de Master, Université de Ouargla, 42P.

Bouhali, H. 2015 - Caractérisation des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et étude de leur activité antioxydante : étude comparative entre l'huile essentielle des écorces sèches et fraîches. Mémoire de Magister, Université de Béjaïa.

## C

CHIASSEON ET BELOIN, 2007- Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre » : Revue de littérature. *Antennae - Bulletin de la Société d'entomologie du Québec*, vol. 14, no 1, 6p.

COUTANCEAU J. P. 2014. — Coccinellidae, in TRONQUET M. (éd.), Catalogue des Coléoptères de France. Supplément au Tome XXIII de la Revue de l'Association roussillonnaise d'Entomologie: 503-512.

## D

Desai K.G.H. & Park H.J. 2005 - Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *DryingTechnol*; 23:1361–94.

Djenane, D. (2015). Chemical profile, antibacterial and antioxidant activity of Algerian Citrus essential oils and their application in *Sardinapilchardus*. *Foods*, 4: 208-228.

## E

Elliott N, Kieckhefer R, Kauffman W, 1996. Effets d'une invasion de coccinellidés sur des coccinellidés indigènes dans un paysage agricole. *Oecologia*, 105 (4): 537-544.

EPPO (1989)- EPPO Guidelines for Efficacy Evaluation of Plant Protection Products Directives OEPP pour l'évaluation biologique des produits phytosanitaires. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 19, 183-247.

EU.pesticides data : base <http://ec.europa.eu/sanco-pesticides/public/index.cfm>  
(13)e-phy:<http://e-phy.agriculteurs.gouv.fr/>

## F

FRANCHOMME, 2017- Aromathèque Citronnier "zestes de citron" - <http://www.pierrefranchomme-lab.com/aromatheque>.

## G

Gaurav Kumar, P Anandhi, SavitaVarma, S Elamathi, 2009. Occurrence saisonnière de *Brevicoryne brassicae* et d'ennemis naturels sur du chou. *Annals of Plant Protection Sciences*, 17 (2): 476-478.

## H

Hill, T.A. et Foster, R.E. 1998. Influence of selective insecticides on population dynamics of european red mite (Acari : Tetranychidae), apple rust mite (Acari : Eriophyidae), and their predator *Amblyseius fallacis* (Acari : Phytoseiidae) in apple. *J. Econ. Entomol.* 91 : 191-199.



Hoddle MS, 2004. Chapitre 4 : [ed. par Driesche, RG van \ Reardon, R.]. Morgantown, Virginie-Occidentale: équipe d'entreprises du secteur de la santé des forêts du département de l'agriculture des États-Unis, 24-39.

Hodek I, Honek A, 1996. Écologie des Coccinellidae., Pays-Bas: Kluwer AcademicPublishers.

## I

Iperti G, 1964. [Titre anglais n'est pas disponible]. (Les parasites des aphidophages des Coccinelles dans les Basses-Alpes et les Alpes-Maritimes.) Entomophaga, 9: 153-180.

## K

Kajita Y, Evans EW, 2009. Dynamique ovarienne et oosorption chez deux espèces de coccinelles prédatrices (Coleoptera: Coccinellidae).Entomologie physiologique, 34 (2): 185-194. <http://www.blackwell-synergy.com/loi/pen>

Kajita, Y., O'Neill, EM, Zheng, YB, Obrycki, JJ, Weisrock, DW, 2012. Signature génétique d'une population de rejets humains dans une coccinelle invasive, *MolecularEcology*, 21 (22): 5473-5483 [http : //onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/) (ISSN) 1365-294X.

## L

Lopez, M. D., A. Maudhuit, M. J. Pascual-Villalobos, and D. Poncelet. 2012. Development of formulations to improve the controlled-release of linalool to be applied as an insecticide. *J. Agric. Food Chem.* 60: 1187–1192.

## M

Madene, A.Jacquot ,J.Scher,and S.Desobry.2006.Flavour encapsulation and controlled release- a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41: 1–21.

Magro, A., Lecompte, E., Magne, F., Hemptinne, J., Crouau-Roy, B., 2010. Phylogeny of ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae): are the subfamilies monophyletic? », *MolecularPhylogenetics and Evolution*, vol. 54, no 3, .848–833 p.

Majerus MEN, 1994. Coccinelles. Londres, Royaume-Uni; HarperCollinsAcademic, 367 p. Shahadi F, M El-Bouhssini, Babi A, 2002. Premier signalement de parasitoïdes sur le coccinellide à sept points prédateur, *Coccinellaseptempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) en Syrie. *Journal arabe de la protection des végétaux*, 20 (1): 49-51.

Majerus M, Kearns P, 1989. Les coccinelles. *Naturalists 'Handbooks* Slough, Royaume-Uni; Richmond Publishing Co. Ltd., n ° 10: 103 p.

Majerus M, Majerus T, Cronin A, 1998. L'héritage d'une forme mélanique de la coccinelle à 7 points, *Coccinellaseptempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal britannique d'entomologie et d'histoire naturelle*, 11 (3/4): 180-184.

McClements D. & Lesmes U. 2009 - Structure-function relationships to guide rational design and fabrication of particulate food delivery systems. *Trends Food Sci Technol*; 20:448-57.

Mc Donald L.L., Guy R.H., Speirs R.D. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. *Marketing Research Report*. n° 882. Washington: *Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture*. 183 p.

Mochiah M., Banful B. & Fening K., 2011. Botanicals for the management of insect pests in organic vegetable production. *J. Entomol. Nematol.*, 3, 85-97.

## N

Nerio L.S., Olivero-Verbel J., Stashenko E. 2009. Repellency activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Motschulsky* (Coleoptera). *Journal of stored Products Research* 45: 212-214.

## P

Provost, C. Coderre, D. Lucas, É. Chouinard G. and Bostanian N. J. 2002- Impacts of a sublethal dose of lambda-cyhalothrin on phytophagous mite intraguild predators in apple orchards. *PHYTOPROTECTION* 84 : 105-113.

## S

Saharaoui L, 1994 .inventaire et étude des quelques aspects bio-écologique des coccinelles entomophages (Coléoptère, Coccinellidae) en Algérie .*J.AFr.* Vol.108(6) pp 213 R224.

Saharaoui L, 1998 .Les coccinelles d'ALGérie (Inventaire préliminaire et régime alimentaire .*Bul.Soc.Ent.France* . 103(3), pp 213 R224.

**Sellami S., Tounsi S., Jamoussi K.** (2015) - La lutte biologique, alternative aux produits phytosanitaires chimiques *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 19(5), 736-743. 736.

Stanyard, M.J., R.E. Foster et T.J. Gibb. 1998. Population dynamics of *Amblyseius fallacis* (Acari : Phytoseiidae) and european red mite (Acari : Tetranychidae) in apple trees treated with selected acaricides. *J. Econ. Entomol.* 91 : 217-225.

<http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:apps&type=home>.

## **T**

Turnock WJ, Wise IL, Matheson FO, 2003. Abondance de certaines coccinellines indigènes (Coleoptera: Coccinellidae) avant et après l'apparition de *Coccinellaseptempunctata*. *Entomologiste canadien*, 135 (3): 391-404.

## **V**

Valério E, Cecílio A, Mexia A, 2007. Titre Interactions entre les espèces de pucerons et les organismes utiles dans les cultures protégées pour le poivron doux. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 33 (2): 143-152.

Vekaria MV, Patel GM, 2005. Abondance saisonnière de *Lipaphis erysimi* (Kalt.) Et de leurs ennemis naturels sur d'importants cultivars de moutarde dans le nord du Gujarat. *Indian Journal of Entomology*, 67 (4): 369-377.