

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

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en
Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Phytopharmacie appliquée

**Evaluation de l'impact des températures de
stockage sur la stabilité et l'activité biocide des
huiles essentielles formulées.**
Cas du *Sitophilus oryzae* (Insecta, Curculionidae)

Présenté par : **LEMDANI Nacira**

Devant le jury :

Mr.HAROUN M.E.F	M.A.A.	U.S.D.B	Président
Mr. DJAZOULI Z. E.	M.C.A.	U.S.D.B	Promoteur
Mr. MOUSSAOUI.K	Doctorant	U.S.D.B	Co-promoteur
Mlle SABRI K.	M.A.A	U.S.D.B	Examinatrice
Mlle TCHAKER F.Z.	Doctorante	U.S.D.B	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE **2012/2013**

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, louange à « **ALLAH** » qui ma guidé sur le droit chemin tout au long du travail et qui m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes, sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas aboutit.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance, ma profonde gratitude et mes remerciements à Monsieur le Professeur : **Dr Djazouli** , qui a fait preuve d'une grande patience et qui a été d'une grande aide dans la réalisation de ce travail, ses conseils, ses orientations ainsi que son soutien moral et scientifique m'ont permis de mener à terme ce projet.

Je remercie également mon Co-promoteur **Mr MOUSSAOUI.K**, pour ses conseils et surtout pour son soutien tout au long de ce travail.

Je remercie vivement **Mr HAROUN M.E.F** , de bien vouloir accepter de présider le jury.

Mes vifs remerciements sont adressés à **Mme SABRI** et **Melle TCHAKER** de bien vouloir juger ce travail.

Je tiens à remercier **Melle Amina** Technicienne au niveau du laboratoire de zoologie, pour ses encouragements et sa gentillesse.

Un grand merci est adressé à mes chères amies de l'INA **Naima** et **Farida** qui m'ont apporté de l'aide et du soutien sur tous les plans.

Je remercie surtout mes collègues de la spécialité Phytopharmacie Appliquée **Hanane**, **Malika**, **Salem**, **Zineb** et **Yaakoub**.

**Evaluation de l'impact des températures de stockage sur la stabilité et l'activité biocide des huiles essentielles formulées.
Cas du Charançon du riz (Insecta, Curculionidae)**

Résumé

Pour rester en vie, les insectes ont besoin de nourriture, d'air et de l'eau. Les céréales stockées fournissent un endroit propice pour le séjour et le développement des insectes.

Les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques apportent une solution alternative aux traitements chimiques pour la protection des denrées stockées.

La présente étude envisage l'évaluation de l'activité insecticide de trois formulations aqueuses à base de deux huiles essentielles du thym et du citronnier. Ces dernières sont appliquées à différentes températures de 19, 25 et 28°C sur une population de calandre du riz, considérée comme un ravageur redoutable des denrées stockées.

Les résultats obtenus ont pu démontrer une nette différence d'efficacité de l'huile essentielle formulée à base du thym qui se traduit par un fort pourcentage de mortalité du ravageur par rapport à celui du citronnier.

Le carvacrol marque une supériorité de toxicité à l'égard de thymol et du limonène

Il est à noter que pour les trois formulations biologiques, l'écart de températures influence clairement la qualité des traitements appliqués.

Mots clés : charançon du riz, molécules bioactives, activité biocide, *Sitophilus oryzae*, bioproduits, chémotypes.

Assessing the impact of storage temperature on the stability and biocidal activity of essential oils formulated. Case of rice weevils (Insecta, Curculionidae)

Summary

To stay alive, insects need food, air and water. Stored grain provides a suitable location for the stay and development of insects.

Essential oils extracted from aromatic plants provide an alternative to chemical treatments for the protection of stored products.

This paper considers the evaluation of the insecticidal activity of three aqueous formulations based on two essential oils of thyme and lemon. These are applied to different temperatures of 19, 25 and 28 ° C in a population of calender rice considered a serious pest of stored.

The results demonstrated a significant difference in efficacy of the essential oil formulated with thyme which results in a high percentage of mortality of the pest compared to the lemon.

Carvacrol brand superiority toxicity towards thymol and limonene.

It is noted that for the three biological formulations, the temperature difference clearly influences the quality of the treatments applied.

Keywords: rice weevil, bioactive molecules, biocidal activity, *Sitophilus oryzae*, bioproducts, chemotypes.

تقييم تأثير درجة حرارة التخزين على استقرار ونشاط مبيد الأحياء من الزيوت الأساسية المصاغة.
حالة الأرز السوس (الحشرات، السدر).

ملخص

إن الحشرات بحاجة إلى الغذاء، الماء والهواء للبقاء على قيد الحياة. الحبوب المخزنة توفر المكان المناسب لإقامة و تطوير الحشرات.

توفر الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية بديلا للعلاجات الكيميائية لحماية المنتجات المخزنة.

تقيم هذه الدراسة نشاط الحشرات من ثلاثة تركيبات مائة استنادا إلى اثنين من الزيوت الأساسية المستخلصة من الزعتر والليمون. وتطبق هذه الأخيرة لدرجات حرارة مختلفة من 19, 25 و 28 درجة مئوية في عشيرة الأرز التي تعتبر آفة خطيرة من المنتجات المخزنة.

أظهرت النتائج المحصلة عليها وجود اختلاف كبير في فعالية الزيت العطري المستخرج من الزعتر الذي أدى إلى نسبة عالية من الوفيات من الآفة مقارنة مع الزيت العطري المستخرج من الليمون.

بيّن Carvacrol تفوقه في السمية مقارنة مع التيمول و الليمونين.

ويلاحظ أن للتركيبات البيولوجية الثلاث والفرق في درجة الحرارة يؤثر بشكل واضح على نوعية العلاجات المطبقة.

كلمات البحث: سوسة الأرز ، الجزيئات النشطة بيولوجيا، مبيد بيولوجي ، سوسة الأرز , المنتجات الحيوية. Chemotype.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	11
Chapitre I : Etude bibliographique	14
I. Données générales sur le blé tendre	15
I.1 Généralités sur le blé tendre	15
I.2. Présentation de l'espèce	15
I.2.1. Biologie de blé tendre	15
I.2.2. Position systématique	16
1.3. Importance économique	17
1.3.1. Dans le monde	17
1.3.2. En Algérie	17
II .Facteurs et causes d'altération des grains entreposés	18
II.1. Facteurs d'altération	18
II.1.1. La durée du stockage	18
II.1.2. La température	18
II.1.3. L'humidité du grain	19
II.2. Causes d'altération	19
II.2.1. Insectes ravageurs	19
II.2.1.1. Présentation taxonomique de l'espèce étudiée <i>Sitophilus oryzae</i> L .	20
II.2.1.2. Présentation des formes biologique de l'espèce étudiée <i>Sitophilus oryzae</i> L.....	20
II.2.1.3. Développement de l'insecte	22

II.2.1.4. Dégâts causés par les insectes	23
III. Méthodes de lutte contre les insectes des denrées stockées	23
III.1. Lutte chimique	23
III.2. Lutte physique et mécanique	24
III.3. Lutte biologique	24
III.3.1. Les huiles essentielles	24
III.3.1.1. Biogenèse des huiles essentielles	25
III.3.1.2. Bioactivité des huiles essentielles	25
III.3.1.3. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles	25
III.3.1.3.1. Facteurs d'origine naturelle intrinsèques	26
III.3.1.3.1.1. Le cycle végétatif	26
III.3.1.3.1.2. L'organe producteur	26
III.3.1.3.1.3. L'origine botanique	26
III.3.1.3.2. Facteur d'origine naturelle extrinsèque	26
III.3.1.3.3. Facteurs d'origines technologiques	26
III.3.1.4. Activité insecticide des huiles essentielles	27
 Chapitre II: Matériel et Méthodes	 28
II.1 Objectif	29
II.2. Matériel d'étude	29
II.2.1. Matériel végétal	29
II.2.2. Matériel animal	29
II.2.3. Formulations des bioproduits	30

II .3. Méthodes d'étude	30
II.3.1. Dispositif expérimental	30
II.3.2. Estimation du taux de mortalité	32
II.3.3. Estimation de la mortalité corrigée	32
II.4. Analyse statistique des résultats	33
II.4.1. Analyses multivariées	33
II.4.2. Analyses de la variance	33
Chapitre III : Résultats	34
1. Évolution temporelle du taux de mortalité de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées	35
2. Estimation de la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulée	37
3. Tendance de la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées	39
4. Étude comparée de la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulée	41
Chapitre IV : Discussion générale	46
1-Effet des formulations des huiles essentielles sur <i>Sitophilus oryzae</i>	47
2- Evaluation de la toxicité des formulations des huiles essentielles sur <i>Sitophilus oryzae</i> sous l'effet de la température	48
Conclusion	51

LÉGENDES DES FIGURES

Figure I.1 : Biologie du blé : Blé, épi et fleur	16
Figure I.2: Différents stades de développement de <i>Sitophilus oryzae</i>	21
Figure I.3 : Cycle de vie de <i>Sitophilus oryzae</i> (NSW Agriculture).....	22
Figure I.4: Dégâts de <i>Sitophilus oryzae</i> adulte sur les grains de blé.....	23
Figure II.1: Dispositif d'élevage du matériel entomologique.....	29
Figure II.2: Présentation du matériel végétal.....	30
Figure II.3. Schéma récapitulatif de la logique des traitements appliqués.....	31
Figure III.1 : Évolution temporelle du taux de mortalité de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures sous l'effet des huiles essentielles formulées.....	36
Figure III-2: Estimation de la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures sous l'effet des huiles essentielles formulées.....	38
Figure III-3 .Tendance de la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures sous l'effet des huiles essentielles formulées.....	40
Figure III-4: Étude comparée de la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i> à différentes températures sous l'effet des huiles essentielles formulées	42
Figure III-5 : GLM global des différents facteurs de température, temps et traitements sur la mortalité corrigée de <i>Sitophilus oryzae</i>	43
Figure III-6 : Etude comparée de la mortalité corrigée des individus de <i>Sitophilus oryzae</i> sous l'effet de l'interaction des facteurs température et traitements.....	44
Figure III-7: Etude comparée de la mortalité corrigée des individus de <i>Sitophilus oryzae</i> sous l'effet de l'interaction des facteurs température et temps.....	45

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

ACP : Analyse en composantes principale

ANOVA: Analysis Of Variance

DL50 : Dose létale pour tuer 50% de la population traitée.

FAO: Food and Agriculture Organization

Fig: Figure

G.L.M : Le modèle général linéaire.

H : heure

Ha : Hectare

HE : Huile essentielle

MC : mortalité corrigée.

Mt : millions de tonnes.

S: *Sitophilus* .

Q: Quintal.

% : pourcent.

µL : micro litres

INTRODUCTION

Introduction

La culture des céréales représente un secteur économique important, non seulement pour l'agriculture Algérienne, mais aussi au niveau international. Les céréales demeurent l'aliment de base d'une très grande partie de la population mondiale. Les graines de céréales constituent, depuis toujours, la principale ressource alimentaire de l'Homme et de l'animal et possèdent un pouvoir nutritionnel important. Malheureusement, de nombreux agents de détériorations (vertébrés, insectes, moisissures, acariens,...) sont la cause de la perte d'une grande partie des récoltes de céréales (**PFOHL-LESZKOWICZ, 1999**).

Les pertes les plus importantes sont causées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (**ALZOUMA et al., 1994; FLEURAT-LESSARD, 1994**). Parmi les coléoptères, la calandre du riz (*Sitophilus oryzae* L.) (Coleoptera: Curculionidae) est universellement reconnue comme l'un des plus dévastateurs des céréales entreposées, non seulement en raison de sa propre consommation, mais aussi parce qu'elle ouvre en plus la porte à tout un ensemble de détritivores dont le plus fréquent est le *Tribolium* rouge de la farine (*Tribolium castaneum* Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) qui parachève les dégâts (**MARKHAM et al., 1994; THRONE, 1994**).

D'après la **FAO** (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture), les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale. En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cible telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants (**MEBARKIA et al., 2006**).

THIAM et DUCOMMUN (1993) et **REGNAULT-ROGER et al. (2008)** avancent que les produits végétaux à action phytosanitaire ont une très longue histoire et les techniques, traditionnellement bien établies, ont apporté leur preuve d'efficacité dans plusieurs pays africains. Ces pratiques ont été abandonnées au profit des méthodes modernes à cause des nombreux changements subits par l'agriculture au cours des dernières décennies.

Les huiles essentielles des plantes sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines ont des propriétés pharmaceutiques reconnues, d'autres sont utilisées comme bases de parfums ou comme additifs alimentaires. La qualité des huiles essentielles dépend d'un grand nombre de paramètres d'origines différentes tels que : l'origine botanique, le cycle végétatif, le site producteur et les conditions géographiques et climatiques, etc. (**MERGHACHE et al., 2009**).

Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche de molécules nouvelles en tenant compte de leur efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui retient l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales (**BENAYAD, 2008**).

Le présent travail vise l'amélioration de la stabilité de solutions insecticides à base d'huiles essentielles afin de minimiser les pertes post-récoltes, la fréquence des traitements et de prolonger la durée de conservation des céréales. Il sera donc question tout au long de nos travaux de déterminer les conditions optimales d'extériorisation de l'effet létale des huiles essentielles formulées sous différents régimes thermiques.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Recherche bibliographique

I. Données générales sur le blé tendre

I.1 Généralités sur le blé tendre

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant à la famille des Poacées dont les graines présentent par leur abondance et leur composition un intérêt majeur pour l'alimentation de l'Homme et des animaux. Les graines alimentaires appartiennent à une dizaine d'espèces végétales. Les plus employées sont : le blé, le maïs et l'orge (**REED, 1992**).

Sur le plan alimentaire, on estime que le blé constitue environ 20% des calories consommées et constitue la 1^{ère} source de protéines. Les produits issus de la culture du blé (grains et pailles) sont majoritairement utilisés à des fins alimentaires même si quelques utilisations non alimentaires existent. De manière générale, les grains sont utilisés tels quels pour l'alimentation du bétail ou pour produire de la farine servant à la production de pain, de pâtes ou de biscuits. En dehors du pain et des pâtes, un nouveau débouché se développe à l'heure actuelle en même temps que la vague des produits biologiques : le blé à germer. Le blé est le premier type de graines à germer consommé dans l'alimentation humaine. Il est suivi du soja, des lentilles et de la luzerne, notamment. En outre, le blé trouve des débouchés dans des industries telles que celles des cosmétiques ou de la diététique, ainsi que celles de l'amidonnerie qui fournit des applications aussi variées que le liant pour la fabrication d'engrais, l'enrobage des semences, les papiers peints, les rubans adhésifs, le bioéthanol, etc. (**ZOHARY and HOPF, 1988 in BOGARD, 2011**)

I.2. Présentation de l'espèce

Les grains de céréales constituent depuis toujours la principale ressource alimentaire de l'homme et des animaux (**MULTON, 1982**), le blé est la céréale la plus cultivée, son adaptation facile à différents sols et climat, lui permet d'être cultivée pratiquement dans le monde entier (**BONJEAN et LEBLOND, 2000**).

I.2.1. Biologie de blé tendre

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des Graminées. Le genre *Triticum* appartient à la tribu des Triticées au sein de la famille des Poacées et plus largement au groupe des angiospermes, monocotylédones (**BOGARD, 2011**).

C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscents, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum* L., 1753) et le blé dur (*Triticum durum* Shuns. 1899) mais il existe de nombreuses autres espèces de *Triticum* qui se différencient par leur degré de ploïdie (FEILLET, 2000).

Les espèces du genre *Triticum* sont des herbacées annuelles à feuilles alternes et à croissance définie. De graine à graine, le cycle du blé se compose d'une période végétative marquée par la production de racines, feuilles et tiges puis d'une phase reproductrice marquée par la formation des épis, des fleurs puis par le remplissage des grains (Fig.I.1) (BOGARD, 2011).

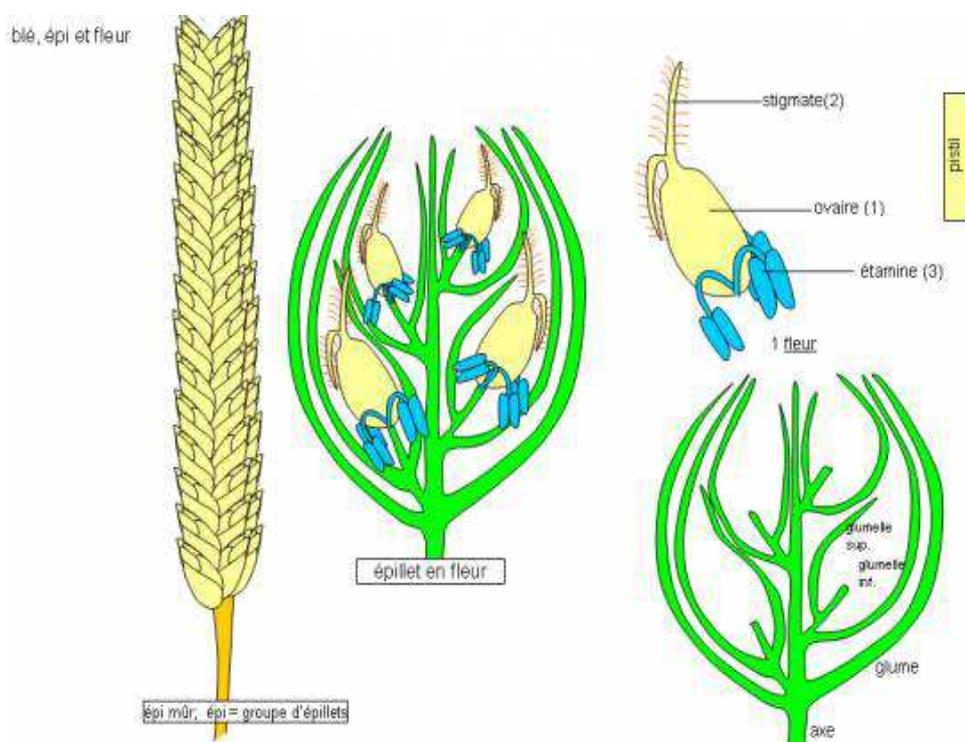


Figure I.1 : Biologie du blé : Blé, épi et fleur (GALLIEN, 2008)

I.2.2. Position systématique

D'après CHADEFAUD et EMBERGER (1960), PRATS (1960) et FEILLET (2000), la position taxonomique du blé tendre est la suivante :

Règne:	<i>Plantae</i> (Règne végétale)
Division	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe:	<i>Liliopsida</i> (Monocotylédones)
S/ Classe:	<i>Commelinidae</i>
Ordre:	<i>Poale</i>

Famille: *Poaceae* (ex : Graminées)
S/ Famille: *Triticeae*
Tribu: *Triticinae* (Triticées)
S/Tribu: *Triticinae*
Genre: *Triticum*
Espèce: *Triticum aestivum L / Triticum vulgare*

1.2. Importance économique

1.2.1. Dans le monde

Le blé vient en tête de classement des cultures stratégiques car il constitue une source alimentaire pour plus de 35% de la population humaine (**Evans, 1993**). Les principaux pays importateurs de blé sont, à l'exception du Japon (importations de 5,5 Mt par an) et de l'Union européenne (7 Mt), qui est également exportatrice (15 Mt), des pays en développement souvent confrontés à des problèmes de solvabilité. Parmi eux viennent en tête les pays du sud et de l'est de la Méditerranée (Afrique du Nord et Proche-Orient), dont l'Égypte qui a importé plus de 7 Mt de blé en 2005-2006, et l'Algérie (5 Mt). La production mondiale de tous les types de blés est de 660 millions de tonnes lors de la campagne 2009-2010, c'est-à-dire près de 100 kg par habitant, pour l'ensemble de la population mondiale. En volume de production, c'est la quatrième culture mondiale derrière la canne à sucre, le maïs et le riz. L'amélioration mondiale des techniques culturales et la sélection génétique ont conduit à un accroissement considérable des rendements moyens, passant de moins de 10 q/ha en 1900 - soit 1 tonne par hectare - à 29 q/ha en 2010. Le développement de l'irrigation, la réduction des pertes, l'amélioration des infrastructures (routes, capacités de stockage) constituent des moyens qui peuvent encore être mis en œuvre dans de nombreuses régions pour augmenter la production. La Chine vient au premier rang avec 16,9 % de la production mondiale, devant l'Inde (11,8 %), la Russie (9,1 %), les États-Unis (8,8 %) et la France (5,6 %) mais l'ensemble de l'Union Européenne est le premier producteur mondial avec 143 millions de tonnes en 2010. L'Amérique du Sud connaît des rendements stables avec 20 q/ha, l'Afrique et le Proche-Orient 10 q/ha (avec une grande variabilité selon les années au Maghreb), l'Égypte et l'Arabie saoudite ont atteint, en culture irriguée, 35 à 40 q/ha (**FAOSTAT, 2009**).

1.2.2. En Algérie

Les céréales et leurs dérivés représentent un élément stratégique dans le système alimentaire Algérien aussi bien du point de vue superficie agricole occupée que du point de vue économique et nutritionnel. En effet, 80% de la superficie agricole utile du pays est occupée par la production céréalière. La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 millions d'ha (**DJERMOUN, 2009**).

Les produits de céréales et notamment la semoule de blé dur et la farine de blé tendre représentent l'alimentation de base de l'Algérien moyen, particulièrement en milieu rural. La consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205 kg /habitant /an (**DAMASSE L, 2009**).

Les céréales sont des produits stockées à long terme (**DOUMANDJI et al., 2003**) mais de nombreux agents de détérioration (oiseaux de stocks, rongeurs, insectes, acariens, micro-organismes) sont la cause de perte d'une grande partie des récoltes des céréales (**BELYAGOUBI, 2006**). En Algérie les dégâts provoqués seulement par les insectes dépassent de loin les 33% en période d'été (température optimale de développement des insectes) **MEBARKIA et GUECHI (2006)**.

II .Facteurs et causes d'altération des grains entreposés

II.1. Facteurs d'altération

II.1.1. La durée du stockage

Un temps prolongé de stockage peut, d'une part, favoriser la création d'une zone propice à l'altération et à l'évolution de certaines espèces à cycle court et, d'autre part, contribuer à l'installation des réactions chimiques de dégradation telles que: la dénaturation des protéines, des glucides, des lipides et des acides nucléiques , les graines subissent un éclatement à des températures assez élevées, la destruction des vitamines, surtout la vitamine B1 et les oxydations par l'oxygène de l'air (**MULTON, 1982**).

II.1.2. La température

Le facteur température est déterminant pour le développement des organismes vivants. Ce facteur est, lui-même, lié au degré hygrométrique de l'air ambiant. Lorsque le degré hygrométrique décroît, la température de l'air s'élève (**CANGARDEL, 1978 ; MULTON, 1982**).

Il est à noter que la température seule peut agir sur le taux de croissance des ravageurs de denrées stockées. Une estimation de la durée maximale de conservation peut se référer aux conditions de stockage et de conservation existantes à l'état sanitaire du lot et à l'utilisation ultérieure du blé. En effet, les insectes nuisibles de grains ne peuvent achever leur cycle complet de développement (de l'œuf à l'adulte suivi de l'accouplement et de la ponte) à des températures inférieures à 10°C ou supérieures à 35 °C (**FOURAR, 1987 ; CAMARA, 1991**).

II.1.3. L'humidité du grain

Le facteur humidité de l'air est lié à un autre facteur, la teneur en eau des grains. Cette teneur en eau varie selon la nature des grains stockés. La détérioration du produit au cours de son stockage dépend de sa teneur en eau parce qu'une forte teneur en eau favorise la mobilité des constituants à l'intérieur des graines, donc permet un meilleur contact enzyme-substrat, point de départ des réactions de dégradation interne (**MULTON, 1982**).

En effet un blé qui a une teneur en eau inférieure à 8% risque moins d'être attaqué par les insectes puisqu'il est trop sec et le corps des insectes en général contient plus de 50% d'eau (**FLEURAT-LESSARD, 1990**)

II.2. Causes d'altération

BENAYAD (2008), estime que le stock de céréales constitue une entité formée d'une part de la céréale à stocker et d'autre part de l'environnement dans lequel il évolue et où il subit diverses agressions. Ces agressions se répartissent en quatre groupes principaux :

- **Les agressions d'origine mécanique** sont dues à des chocs entraînant des fissures ou des brisures.
- **Les agressions d'origine biochimique et chimique** sont très variées : réaction de Maillard, dénaturation des protéines, dégradation et destruction des amidons.
- **Les agressions d'origine enzymatique** sont dues à des hydrolases qui dégradent les réserves biochimiques du grain.
- **Les agressions d'origines biologiques** sont dues à des êtres vivants (rongeurs, oiseaux, insectes, acariens et microorganismes). Ce sont les insectes et les acariens en particulier, qui causent le plus de dégâts aux denrées stockées.

II.2.1. Insectes ravageurs

Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (**ALZOUMA et al., 1994 ; FLEURAT-LESSARD, 1994**). Parmi les coléoptères, la calandre du riz (*Sitophilus oryzae* L.) (Coleoptera: Curculionidae) est universellement reconnue comme l'un des plus dévastateurs des céréales entreposées, non seulement en raison de sa propre consommation, mais aussi parce qu'elle ouvre en plus la porte à tout un ensemble de détritivores dont le plus fréquent est le *Tribolium* rouge de la farine (*Tribolium castaneum* Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) qui parachève les dégâts (**MARKHAM et al., 1994; THRONE, 1994 in CAMARA, 2009**).

II.2.1.1. Présentation taxonomique de l'espèce étudiée *Sitophilus oryzae* L

D'après **HOFFMANN (1954)** et **BORROR et al. (1981)**, la position systématique de *Sitophilus oryzae* L. est la suivante :

- **Embranchement** : Arthropodes
- **SI Embranchement** : Antennates
- **Classe** : Insectes
- **Sous-classe** : Ptérygotes
- **Super-ordre** : Coléoptéroïdes
- **Ordre** : Coléoptères
- **Sous-ordre** : Polyphaga
- **Super-famille** : Phytophagoidea
- **Famille** : Curculionidae
- **Sous-famille** : Rhynchophorinae
- **Genre** : *Sitophilus*
- **Espèce** : *Sitophilus oryzae*.L

Les espèces d'insectes les plus fréquemment rencontrés selon **FOURAR (1987)** sur les grains et les plus répandues à travers le territoire national Algérien sont : *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763), *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1758), *Rhizopertha dominica* (Fabricius, 1792), *Trogoderma granarium* (Evertis, 1899), *Tribolium confusum* (Duv, 1790), *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797), *Ephesta kuchinella* (Zelner, 1879).

Les charançons du genre *Sitophilus*, autrefois appelés «Calandres», sont de petits insectes de 2 à 4 mm de long qui se développent sur les graines des céréales. Ce genre compte 15 espèces décrites dont 6 espèces principalement étudiées : *Sitophilus zeamais*, *S. oryzae*, *S. granarius*, *S. linearis*, *S. rugicollis* et *S. vateriae* (**PLARRE, 2010**). Ces espèces sont peu spécialisées et une même espèce de charançon peut se développer sur plusieurs espèces céréalières. Elles sont cosmopolites et ont colonisé les milieux agricoles de tous les continents, mais sont plus fréquentes dans les régions tropicales (**VIGNERON, 2012**).

II.2.1.2. Présentation des formes biologique de l'espèce étudiée *Sitophilus oryzae* L

- **L'œuf**, est ovale ou piriforme, sa couleur est blanc opaque et brillant. Cet œuf porte une protubérance à son extrémité par laquelle il se fixe. Il mesure de 0,6 à 0,7 mm de longueur et de 0,2 à 0,3 mm de largeur (**SCOTTI, 1978**) (Fig. I.2a).

- **La larve**, après éclosion passe par quatre stades que l'on identifie par la longueur de la capsule céphalique, la larve est de forme très ramassée, presque

globuleuse. Sa couleur est blanchâtre, sa tête d'un brun clair, porte des mandibules plus sombres, fortes et triangulaires (**LACOSTE, 1970**) (Fig. I.2b).

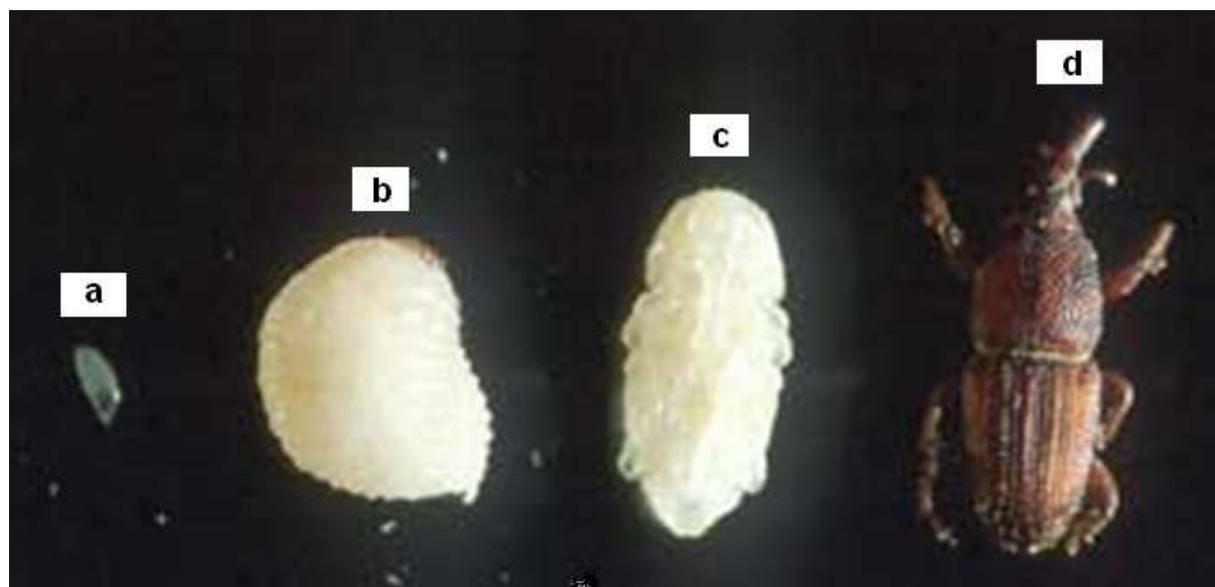


Figure I.2: Différents stades de développement de *Sitophilus oryzae*(80G)

(a) Œuf, (b) : larve, (c) : nymphe, (d) : adulte

- **La nymphe**, à son complet développement, la larve aménage une sorte de chambre de nymphose où elle passe par un stade prénympheal. Après une période d'immobilisation de 50 heures environ, la prénymphe se transforme en nymphe. La durée de ce dernier stade varie de 6 jours (à 22°C) à 15 jours (de 16° à 18°C) (**LEPESME, 1944**). Après la métamorphose, la nymphe, morphologiquement identique à l'adulte, reste repliée, le rostre tourné vers l'abdomen, se transforme en un imago d'aspect clair, qui demeure à l'intérieur du grain, encore 3 à 5 jours (à 25°C) et 80 jours (à 12,5°C) en attendant que durci ssent ses téguments. L'imago perce, ensuite l'enveloppe du grain et s'échappe à l'extérieur par l'extrémité opposée au trou où l'adulte a déposé l'œuf (**LONGSTAFF, 1981**) (Fig. I.2c).

- **L'adulte**, est un petit coléoptère de couleur variant de brun foncé au noir, de 2,5 à 5mm de long, caractérisé par deux grosses taches ocre sur chaque élytre, il se caractérise par la forme de sa tête prolongée par un tube cylindrique appelé rostre. Ce rostre est finement ponctué et porte, à son extrémité, des pièces buccales broyeuses. Il porte aussi des antennes, généralement formées de huit articles (**LACOSTE, 1970** ; **FLEURAT-LESSARD, 1982**). La longévité moyenne de *Sitophilus* est d'environ 4mois à une température de 25° et à 70% d'humidité relative (**STEFFAN, 1978**) (Fig. I.2d).

II.2.1.3. Développement de l'insecte

Les femelles, à l'aide de leur rostre, creusent un puits dans les graines de céréales afin d'y déposer un œuf. Une fois l'œuf déposé, le puits est scellé par une sécrétion mucilagineuse. La totalité des développements larvaire et nymphal est effectuée à l'intérieur du grain. Le développement larvaire comprend 4 stades séparés par une mue. Les larves sont blanchâtres, grasses et rondes, arborant une tête chitineuse rouge fournie de mandibules broyeuses. Le stade larvaire se termine par un allongement de la larve qui perd sa capsule céphalique. Les nymphes font la taille de l'adulte, sont blanchâtres et développent la pigmentation de la cuticule seulement dans les dernières étapes de la nymphose. Le temps de développement complet à l'intérieur du grain de blé est très variable d'une population à une autre. Les souches élevées au laboratoire se développent en 4 à 5 semaines, entre la ponte et l'émergence du grain de blé (Fig. I.3) (VIGNERON, 2012). Les jeunes adultes séjournent 2 à 3 jours dans le grain avant d'en sortir en découpant un trou dans l'enveloppe. L'espérance de vie des charançons est estimée à quelques mois, avec une variation individuelle extrêmement forte (PLARRE, 2010).

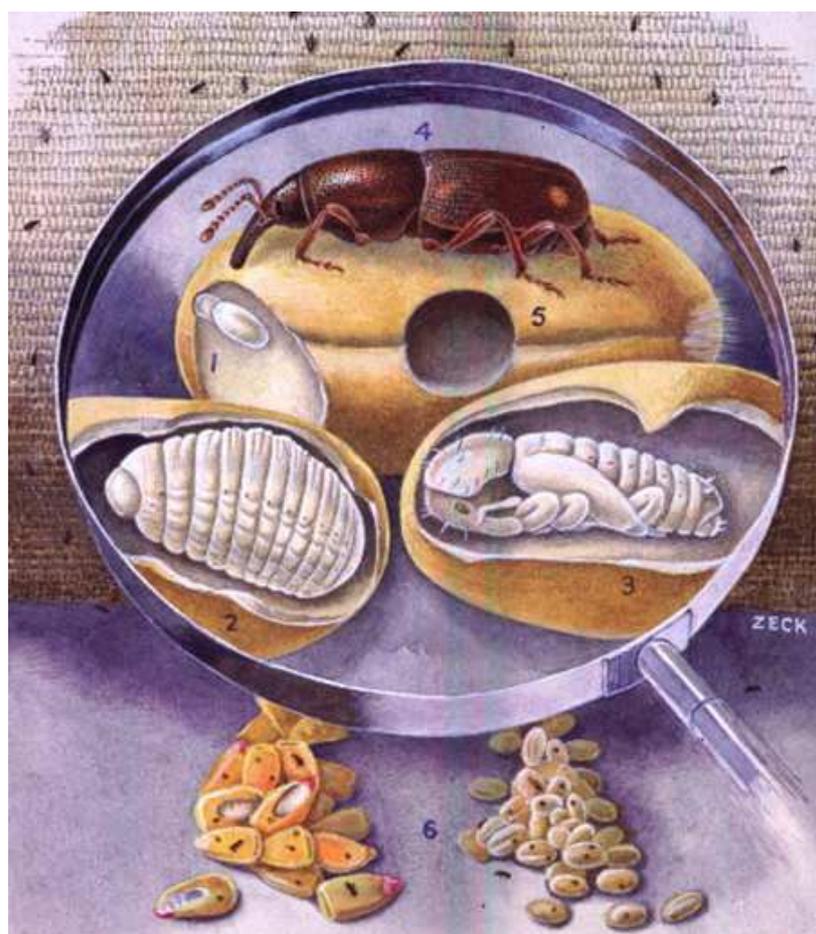


Figure I.3 : Cycle de vie de *Sitophilus oryzae* (ANONYME., SD) ,80G

(1) œuf, (2) larve, (3) nymphe, (4) adulte.

II.2.1.3. Dégâts causés par les insectes

Les insectes consomment les grains notamment au cours du développement larvaire, qui, souvent a lieu, sous forme cachée à l'intérieur même du grain. Les larves se développent au détriment des grains et consomment l'endosperme. Les adultes laissent un grand trou aux bords irréguliers dans le grain et se nourrissent des grains endommagés (Fig. I.4). La conséquence première est donc l'observation de pertes en poids. Le charançon du riz adulte a tendance à former des agrégats et à se reproduire dans les grains entreposés. Ses activités produisent un échauffement et de l'humidité susceptibles de favoriser le développement des moisissures et l'invasion par d'autres espèces d'insectes. Leur importance économique est telle que la majorité des recherches menées sur ces espèces est destinée à la lutte contre leur développement en milieu agricole. Les charançons infestent aussi bien les cultures en champs que les stocks de denrées (**DEMISSIE et al., 2008**). Cela conduit à une perte des graines allant de 20 à 90% (**GIGA et al., 1991**) et on estime à 40% la perte des denrées stockées dans les milieux tropicaux (**GRENIER et al., 1986**).



Figure I.4: Dégâts de *Sitophilus oryzae* adulte sur les grains de blé (80G) (Anonyme, 2012)

III. Méthodes de lutte contre les insectes des denrées stockées

La protection des céréales stockées contre les attaques d'insectes et d'acariens soulève des problèmes variés et elle doit faire appel à un ensemble de techniques différentes qu'il est nécessaire d'appliquer de manière adéquate.

III.1. Lutte chimique :

Depuis la venue des composés organiques de synthèse, on regroupe les insecticides en insecticides organiques (les organochlorés, organophosphorés,

carbamates et pyréthriinoïdes représentent la grande majorité des insecticides organiques de synthèse qui ont été employé ou sont utilisés actuellement) et inorganiques (généralement à base d'arsenic ou de fluosilice, ils sont aujourd'hui prohibés) **RENAULT et PHILOGENE (2005)**

DUCOMP (1978), estime que deux types de traitement sont généralement employés :

- **Traitement par contact**, qui consiste à recouvrir les grains, l'emballage ainsi que les locaux de stockage d'une pellicule de produit insecticide qui agit par contact sur les déprédateurs, dont l'effet est plus ou moins rapide avec une persistance d'action plus longue.

- **Traitement par fumigation**, qui consiste à traiter les grains à l'aide d'un gaz toxique, qu'on appelle fumigant. L'intérêt majeur de la fumigation est de faciliter la pénétration des gaz à l'intérieur du grain et donc de détruire les œufs, larves et nymphes qui s'y développent.

III.2. Lutte physique et mécanique :

Elles concernent toutes les techniques susceptibles de rendre le stock sain. En général, elles ne sont pas efficaces contre les formes cachées. Parmi les techniques qui ont été expérimentées et ont eu des succès divers : l'écrasement mécanique dans les « Entoletr », le traitement par le froid et le chaud, le stockage étanche ou sous atmosphère contrôlée et les radiations ionisantes (**MULTON, 1982 ; MONGE et al., 1988**)

III.3. Lutte biologique

Les lieux de stockage représentent des systèmes stables, avec des niveaux déterminés de température et de l'humidité, parce qu'ils forment des enceintes closes, ce qui est favorable pour procéder à une lutte biologique. L'utilisation des phéromones d'insectes attractifs et répulsifs d'alimentation est d'un haut niveau de détection. Ils peuvent être employés comme indicateur des époques d'application des méthodes de lutte contre certains ravageurs des denrées stockées. Ainsi, la lutte par les insecticides botaniques est très recommandée, parmi les moyens mis en œuvre par les plantes pour se défendre contre leurs déprédateurs (**MANN, 1987**)

III.3.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits huileux, volatils, odorants, que l'on exprime des végétaux, appelées aussi essence de plante, essence aromatique ou essence végétale. Les Huiles essentielles (HE) sont constituées de différents composants terpènes, esters, cétones, phénols, et d'autres éléments. Il s'agit de

composés lipophiles synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plantes grâce à des procédés physiques, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Les huiles

essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule à essence ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs voire des papilles (**TEUSCHER et al., 2005**)

L'effet des huiles essentielles dans la lutte contre les insectes a été prouvé par les études menées par **NOUDOGBESSI et al. (2008)** en prouvant l'effet insecticide, ovicide et larvicide des huiles essentielles de *Pimenta racemosa* et de *Chromolaena* (L Robinson) sur le grand capucin *Prostephanus truncatus*(Horn) du maïs.

III.1.1. Biogenèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes constitués principalement de composés terpéniques qui font partie des métabolites dits secondaires de la plante (**BANTHORPE, 1994 ; MAZEN, 2002**), présentent les terpènes comme formes d'unités d'isoprène (2-méthylebuta-1,3diene) et classés en : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40) et polyterpènes ou polyisoprènes (>C40), suivant le nombre d'unités d'isoprènes. Les monoterpènes sont considérés comme volatils et les sesquiterpènes comme semi-volatils (**KESSELEIER et STAUDT, 1999**).

III.1.2. Bioactivité des huiles essentielles

Les huiles essentielles jouent divers rôles dans les plantes qui les produisent. Chez certaines plantes elles ont un rôle protecteur car elles repoussent les insectes. D'autres propriétés (antimicrobienne, antioxydante) sont également évoquées et montrent la diversité du potentiel des huiles essentielles (**GOUDOUM, 2010**).

III.1.3. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition selon multiples paramètres, qu'ils soient d'ordre naturel, d'origine intrinsèque (localisation, maturité, origine botanique et chémotype), soit d'origine extrinsèque liée aux conditions de croissance et de développement de la plante (Sol, climat), ou encore d'origine technologique c'est-à-dire liée au mode d'exploitation du matériel végétal (**BERNARD et al., 1988**).

III.1.3.1. Facteurs d'origine naturelle intrinsèques

III.1.3.1.1. Le cycle végétatif

D'après **BRUNETON (1999)**, pour une espèce donnée la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du développement. Ainsi, la période pendant laquelle la plante est cueillie influence nettement la composition de son huile essentielle.

III.1.3.1.2. L'organe producteur

La composition de l'huile essentielle d'une même espèce végétale peut varier selon sa localisation dans ce végétal (Feuilles, écorce, fleurs....etc.) (**SALLÉ et PELLETIER, 2004**).

III.1.3.1.3. L'origine botanique

Selon **BAYDAR et al. (2004)**, la teneur en huile essentielle ainsi que sa composition peuvent varier d'une espèce végétale à une autre.

III.1.3.2. Facteur d'origine naturelle extrinsèque

Selon **BAYDAR et al. (2004)**, les facteurs environnementaux influencent directement sur la production et la qualité de l'huile essentielle. La température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (tel que les poils sécréteurs des Lamiacées).

En effet, un climat sec et ensoleillé favorise leur production, cause pour laquelle les plantes sont plus riches en H.E. lorsqu'elles poussent dans un climat chaud et sec. La composition de l'HE peut également dépendre de la saison et des conditions géographiques (**SOTO MENDIVIL et al., 2006**).

III.1.3.3. Facteurs d'origines technologiques

Le mode de récolte; les conditions de transport, de séchage et de stockage des plantes peuvent générer des dégradations enzymatiques importantes. Même les procédés d'extraction et de stockage des H.E peuvent être responsables de leur instabilité (**BAYDAR et al., 2004**).

III.1.4. Activité insecticide des huiles essentielles

La mise en évidence du potentiel insecticide des huiles essentielles est un moyen non seulement de comprendre l'utilisation traditionnelle des plantes pour la protection des denrées mais aussi d'offrir des possibilités nouvelles par la mise en œuvre d'extraits de plantes. **DESPHANDE et TIPNIS (1977)** ont montré la toxicité de certaines huiles essentielles dont *Ocimum basilicum* sur *Sitophilus oryzae* et sur *Tribolium castaneum* (**SHAAYA et al., 1997**). D'autres travaux récents (**BEKELE et al., 1996** ; **SÉKOU MOUSSA et al., 2000** ; **SÉKOU MOUSSA et al., 2001** ; **NGAMO et al., 2001** ; **LEE, 2002** ; **KIM et al., 2003** ; **NGASSOUM et al., 2003**) mettent également en évidence l'activité biocide des huiles essentielles. Ces travaux révèlent que l'effet des huiles sur les insectes n'est pas systématique car on observe des réponses différentes suivant l'espèce d'insecte et d'huile essentielle. Ainsi d'après **SHAAYA et al. (1997)** *T. castaneum* ($LC_{50}=11,1 \mu\text{L.L}^{-1}$) est plus résistant que *S. oryzae* ($LC_{50}=7,5 \mu\text{L.L}^{-1}$) ou *Rizoperta dominica* ($LC_{50}=9,6 \mu\text{L.L}^{-1}$) à l'effet fumigeant de l'huile essentielle de menthe, alors qu'il est deux fois plus sensible à l'huile essentielle d'*Eucalyptus nicholii* que *S. oryzae* (**LEE, 2002**).

Un autre moyen d'évaluer l'activité des huiles essentielles est de travailler non pas avec le mélange complexe qu'elles représentent, mais d'étudier l'action spécifique des principaux composés des huiles essentielles. Plusieurs monoterpènes (eucalyptol, limonène, eugénol, isoeugénol, méthyleugénol, camphre, acétate de bornyle, myrcène, α -phellandrene, α -pinène, sabinène, terpinolène) ont été testés par **OBENG-OFORI et al. (1996)**, **OBENG-OFORI et REICHMUTH (1997)**, **PRATES et al. (1998)**, **HUANG et al. (2002)**, **PARK et al. (2003)**. Tous ces auteurs arrivent à la même conclusion sur la toxicité des composés des huiles essentielles : des taux de mortalité de 100% sont atteints et l'inhibition totale de ponte et d'émergence des insectes sur les graines traitées est conservée.

MATERIEL ET METHODES

Chapitre II: Matériel et Méthodes

II.1 Objectif

L'objectif de notre étude se pose sur l'activité biocide de trois molécules bioactives formulées à base de l'huile essentielle extraite du thym (*Thymus fantanasi*) tels que le carvacrol et le thymol et celle d'Agrumes (*Citrus limonium*) cas du limonène vis-à-vis des individus d'un ravageur redoutable des denrées stockées (*Sitophilus oryzae*) sur les grains du blé, soumis à trois températures différentes.

II.2. Matériel d'étude

II.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre expérimentation s'est limité au blé tendre qui appartient à la famille des *Poacées*, genre *Triticum* dont l'espèce est *Triticum aestivum* récupérée au niveau de la C.C.L.S. (Coopérative des Céréales et de Grandes Cultures) d'El Affroun. Les grains utilisés au cours de notre étude ont servi comme milieu propice pour l'infestation du dispositif d'étude.

II.2.2. Matériel animal

Le matériel biologique destiné à l'évaluation de l'efficacité des bioproduits appliqués est limité aux individus de *Sitophilus oryzae* issu des stocks de l'I.T.G.C. (Institut Technique des Grandes Cultures) d'El Harrach (Alger).

L'élevage du ravageur a été réalisé dans une étuve ventilée à une température de 30°C et une humidité relative de 70%. Les individus de *Sitophilus oryzae* sont mis dans un bocal en verre recouvert d'un filet à fines mailles maintenu par un ruban permettant la respiration des insectes et empêchant la fuite des individus (FigII.1).



Figure II.1: Dispositif d'élevage du matériel entomologique

(a) grains infestés (b) dispositif d'élevage

II.2.3. Formulations des bioproduits

Les traitements utilisés lors de notre étude sont des biopesticides formulés à base de deux chémotypes, le carvacol et le thymol à 14% extraits des huiles essentielles du thym (*Thymus fantanasi*) ainsi qu'une huile complète le limonène à 33% extraite des fruits d'agrumes (*Citrus limonium*) (Fig II. 2 a', b' et c'). La formulation a été réalisée par Mr MOUSSAOUI K. du laboratoire de Biotechnologie des productions végétale de l'Université de Blida. Le bioproduit est composé de Matière active (huile essentielle chémotypée ou complète), d'un Tensioactif et d'un Protecteur.



Figure II.2: Présentation du matériel végétal
(a, b et c): *Thymus fantanasi* ; (a', b' et c') : *Citrus limonium*

II .3. Méthodes d'étude

II.3.1. Dispositif expérimental

A partir du matériel biologique arrêté, nous avons essayé d'estimer l'activité biocide des bioproduits sous différents régimes thermiques (19°C , 25°C et 28°C) sur la population de *Sitophilus oryzae*. Pour mieux visualiser les différents volets de l'étude, nous avons établi le schéma directeur (figure II.3).

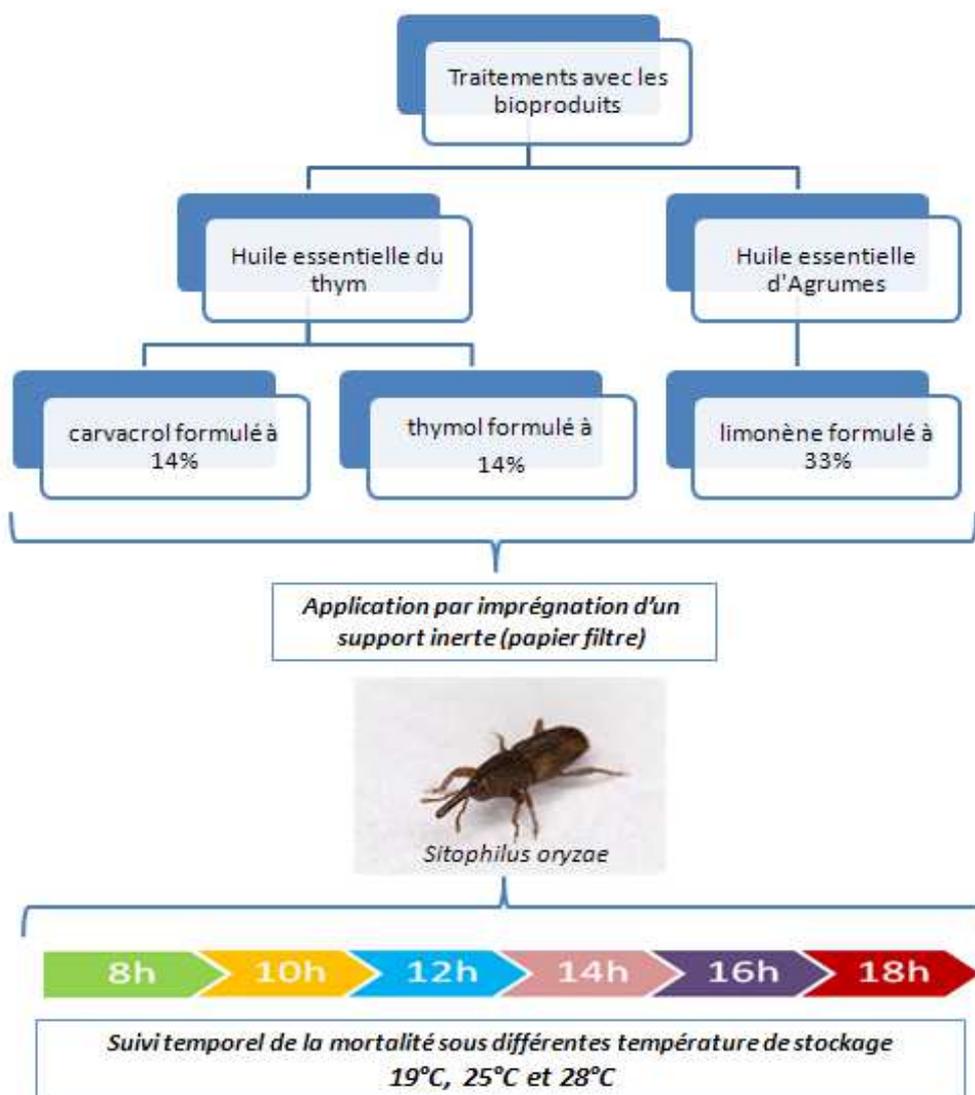


Figure II.3. Schéma récapitulatif de la logique des traitements appliqués

La méthode de l'imprégnation de papiers filtres a été utilisée pour évaluer la toxicité des huiles essentielles formulées.

Des papiers filtres de 9 cm de diamètre sont imprégnés chacun de 1ml d'une solution d'huile essentielle d'une concentration de 2%(Témoin imprégné avec de l'eau distillée).

Les papiers filtres sont placés dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre et de 1 cm de hauteur. Dans chaque boîte sont déposés 10 individus du charançon du riz. Les boîtes de Pétri sont recouvertes avec de la moustiquaire pour éviter la fuite des insectes.

Pour chaque molécule bioactive formulée, nous avons exposé les individus de *Sitophilus oryzae* à trois températures différentes: 19°C, 25°C et 28 °C.

Neuf répétitions sont réalisées pour chaque traitement et ainsi pour chaque température étudiée.

Pour estimer l'influence des températures sur le produit formulé, les boîtes ainsi préparées sont alors marquées par un feutre indélébile et soumises à une température ambiante équivalente à 19°C par contre les autres boîtes sont placées dans l'étuve à deux températures différentes soit 25°C et 28°C. L'évaluation de l'effet biocide du traitement biologique sur les individus de *Sitophilus oryzae* a été réalisé par un comptage effectué toutes les 2 heures pendant une durée de 10 heures (de 8h à 18h).

II.3.2. Estimation du taux de mortalité

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

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

avec :

ΔN : augmentation de la population par les naissances

Δt : variation du temps

II.3.3. Estimation de la mortalité corrigée

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

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

$$MC\% = (M - Mt * 100) / (100 - Mt)$$

Avec :

MC: la mortalité corrigée

M: pourcentage de morts dans la population traitée

Mt: pourcentage de morts dans la population témoin

II.4. Analyse statistique des résultats

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

Dans le cas de variables quantitatives, les relations multivariées sont étudiées à l'aide d'une Analyse en Composante Principale (A.C.P.). Dans cette analyse, l'activité biocide est évaluée selon la mortalité corrigée opérée sur les individus de *Sitophilus oryzae*. A partir de deux premiers axes de l'analyse factorielle, une classification ascendante hiérarchique des périodes est réalisée dans le but de détecter l'activité précoce et tardive des différentes formulations (TERBRAAK et PRENTICE, 1988)

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

Lorsque le problème est de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (Types de formulations, effet de la température sur la mortalité des individus du ravageur des denrées stockées, temps d'expression de l'effet biocide, etc...), il est préconisé de réaliser une analyse de la variance. Dans les conditions paramétriques (ANOVA pour *ANalysis Of VAriance*), la distribution de la variable quantitative doit être normale. Dans certains cas, une transformation logarithmique a été nécessaire afin de normaliser cette distribution. Lorsque plus de 2 modalités interviennent par facteur, nous avons appliqué en outre le test de Tukey qui intervient après l'ANOVA. Il permet de vérifier la significativité de la variable d'intérêt entre toutes les combinaisons des modalités. Dans les cas où aucune transformation ne parvient à normaliser la distribution, une analyse de la variance en condition non paramétrique a été effectuée (test de Kruskal-Wallis). Dans les cas où plusieurs facteurs sont en jeu, il peut arriver que toutes les interactions entre facteurs ne soient pas pertinentes à tester. Nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.).

Résultats

Chapitre III : Résultats

Dans ce chapitre, on a essayé de présenter et d'analyser tous les résultats correspondants à l'impact de trois formulations biologiques à base du carvacrol et du thymol issus de l'huile essentielle du thym et celui du limonène qui est une molécule bioactive de l'huile essentielle d'agrumes sous l'effet de différentes températures sur le taux de mortalité des populations de *Sitophilus oryzae* ainsi que leur mortalité corrigée.

1. Évolution temporelle du taux de mortalité de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées

Le graphe (figure III.1.a) représente l'évolution temporelle du taux de mortalité de *Sitophilus oryzae* à une température ambiante égale à 19°C. Les trois traitements utilisés montrent une efficacité croissante sur le taux de mortalité des individus exposés aux biopesticides. A partir de 10h, le taux de mortalité du carvacrol formulé est le plus important avec un taux équivalent à 97,55% de 16h jusqu'à 18h suivi du thymol et en dernier lieu le limonène. Quant au témoin, il montre une mortalité naturelle presque nulle.

Le graphe (figure III.1.b) montre l'évolution temporelle du taux de mortalité de *Sitophilus oryzae* à une température de 25°C, les trois traitements ont des taux de mortalité plus élevés que le témoin, le thymol a une efficacité biocide la plus élevée et présente une similarité avec le carvacrol. Par contre le limonène a un très faible taux de mortalité qui se rapproche de celui du témoin.

Le graphe (figure III.1.c) manifeste l'évolution temporelle du taux de mortalité des individus de *Sitophilus oryzae* à une température égale à 28°C. Le limonène présente le plus faible taux de mortalité des individus traités qui marque une similarité avec le thymol. Quant au carvacrol, il montre une meilleure efficacité du biopesticide vis-à-vis des individus cibles. Le témoin présente un taux de mortalité nul.

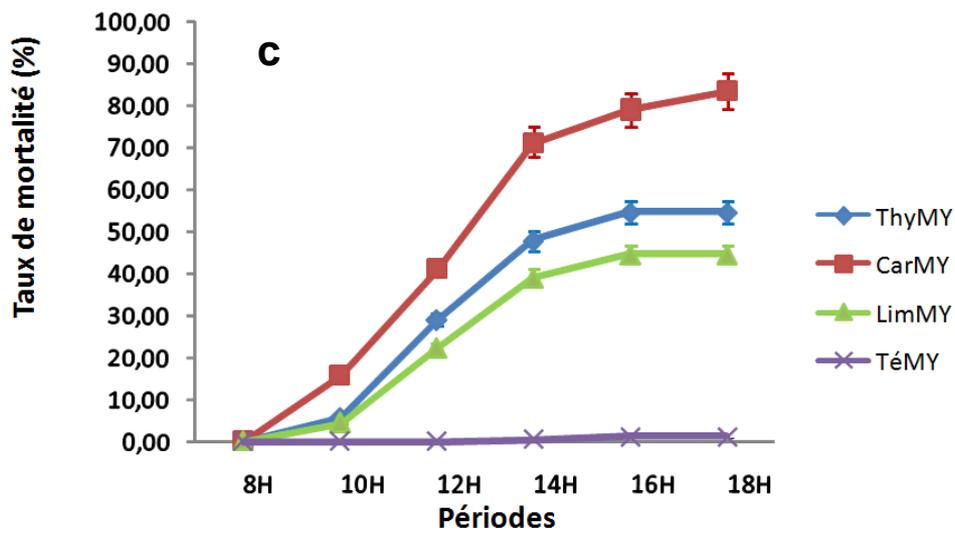
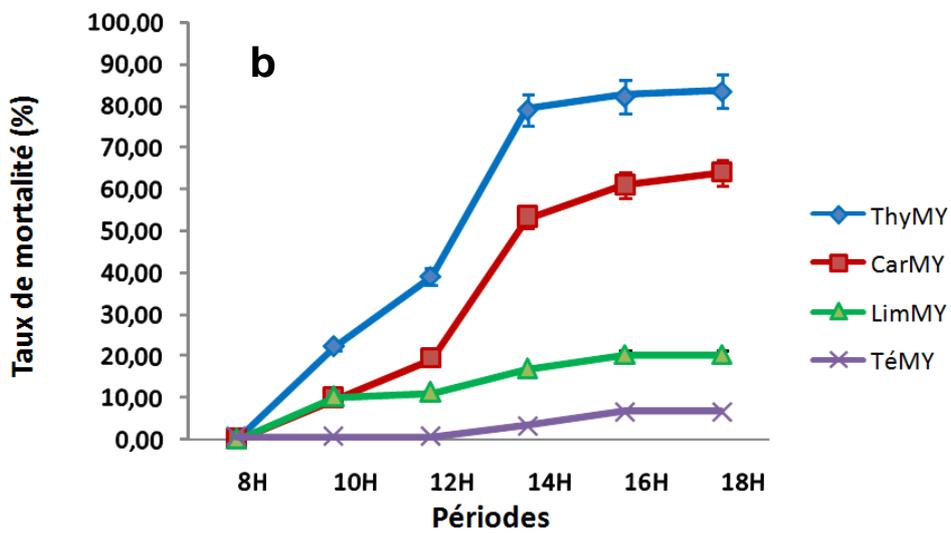
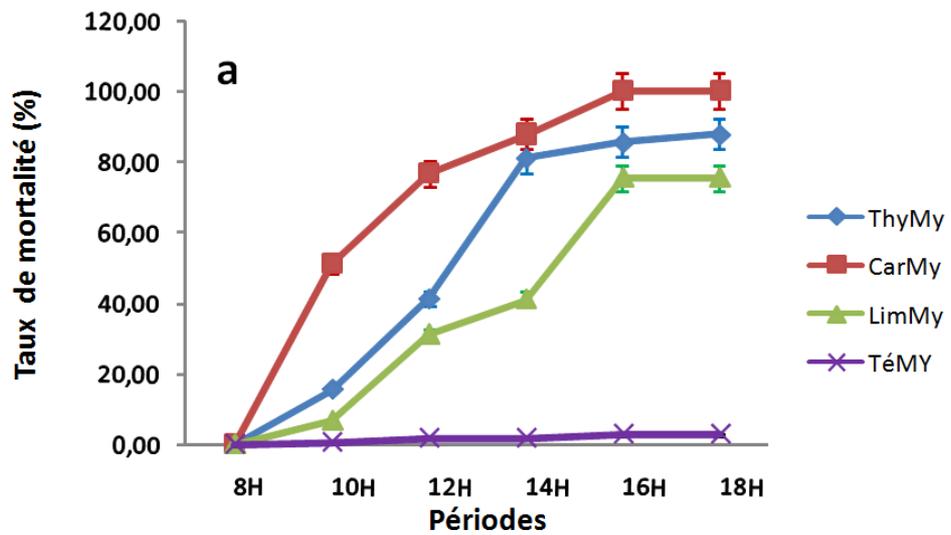


Figure III.1 : Évolution temporelle du taux de mortalité de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulée. (a): 19°C, (b) : 25°C, (c) : 28°C

2. Estimation de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées

Le graphe (figure III.2.a) représente l'évolution temporelle du taux de mortalité corrigée des individus de *Sitophilus oryzae* à une température ambiante égale à 19°C. La vision globale de ce graphe montre que le carvacrol formulé exerce un effet biocide plus important sur *Sitophilus oryzae* par rapport au thymol et le limonène. L'efficacité biocide de ces trois molécules bioactives évolue dans le temps et se stabilise dès 16h.

Le graphe (figure III .2.b) montre l'évolution temporelle du taux de mortalité corrigée des individus de *Sitophilus oryzae* à une température contrôlée équivalente à 25°C. Les résultats indiquent que le limonène exerce un effet très faible sur la mortalité corrigée qui marque un taux de 9,63% à 10h et qui se stabilise à 12h pour un taux équivalent à 13, 79% seulement. Par contre le thymol formulé affiche une meilleure efficacité du taux de mortalité corrigée avec un taux équivalent à 77,53% à 18h suivi du carvacrol formulé pour atteindre un taux de 57,96% à la fin des observations.

Le graphe (figure III.2.c) montre l'évolution temporelle du taux de mortalité corrigée des individus de *Sitophilus oryzae* à une température de 28°C. On constate que la fluctuation de la mortalité corrigée sous l'effet des biocides appliqués sur la population de *Sitophilus oryzae* présente la même tendance dont l'effet létale débute dès 10h et progresse pour atteindre son maximum de 16h à 18h d'exposition.

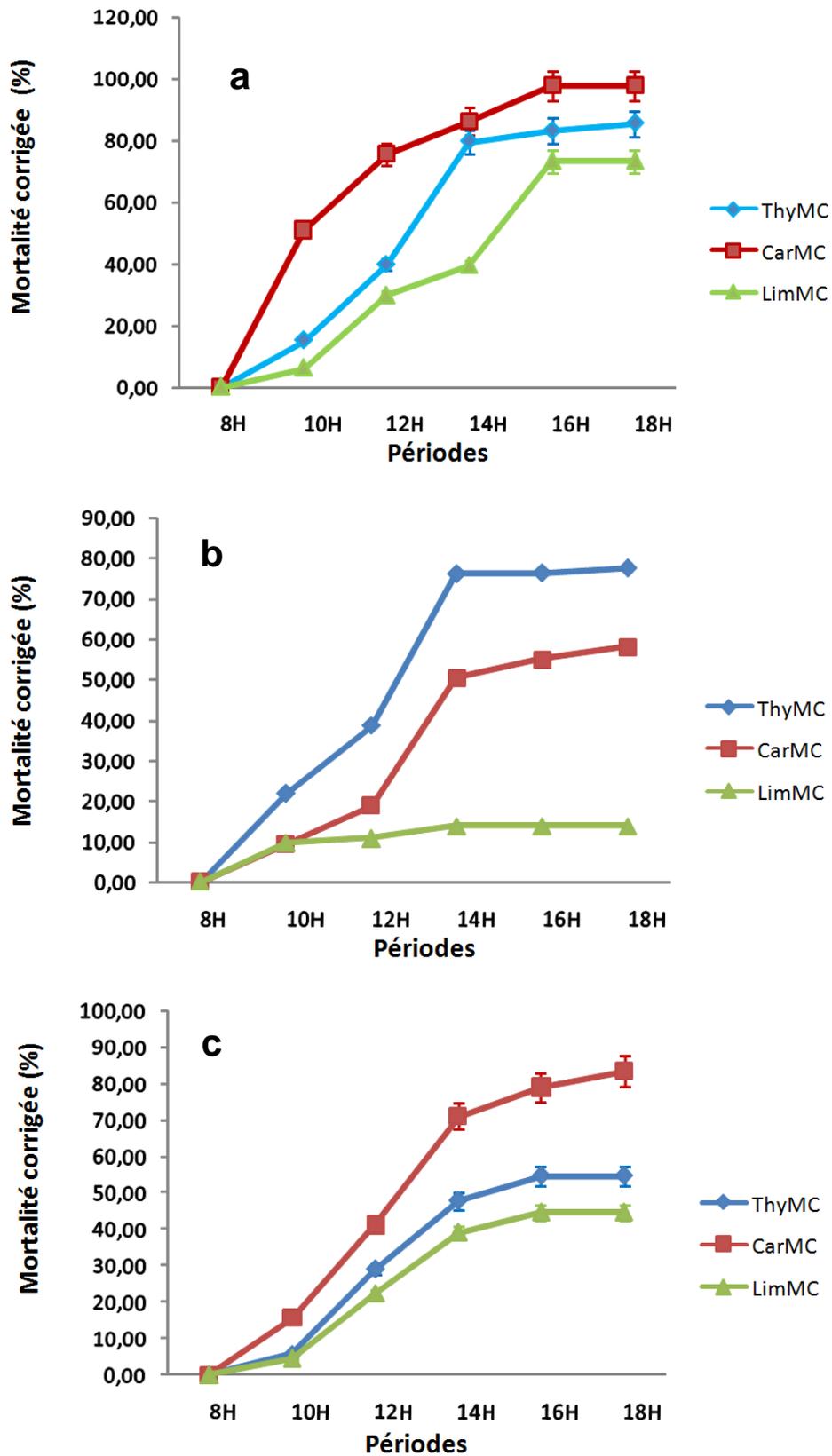


Figure III-2: Estimation de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées. (a): 19°C, (b) : 25°C, (c) : 28°C

3. Tendance de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées

Les résultats de l'analyse en composantes principales (A.C.P.) effectuée avec le logiciel PAST ver 1.9 sur la mortalité corrigée des individus de *Sitophilus oryzae* montrent la présence d'un effet temporel très contrasté des différents traitements à base de molécules bioactives d'huile essentielle du thym, le carvacrol et le thymol ainsi que celui des agrumes notamment le limonène. L'analyse est satisfaisante pour l'ensemble des paramètres étudiés dans la mesure où plus de 80% de la variance est exprimée sur les 2 axes des trois figures (Figure III.3 a, Figure III.3 b et Figure III.3 c).

D'après la (figure III.3 a), la projection des vecteurs relatifs au taux de mortalité corrigée à travers l'axe 1 (94,46%), montre que les 3 traitements formulés à base d'huile essentielle du thym et des agrumes entraînent des mortalités corrigées similaires si elles sont scorées par rapport à l'efficacité temporelle. Les relations établies des mortalités corrigées des individus de *S. oryzae* entre les différentes formulations et l'effet temporel est réconfortée par les valeurs du coefficient de corrélation de PEARSON.

Les valeurs r du coefficient de corrélation ($r=0,5851$, $r=0,5718$ et $r=0,5751$) montrent la présence d'une corrélation positive entre les trois traitements avec la variable temporelle qui désigne les deux points nuage (14h – 18h) (Figure III.3a)

La projection des vecteurs de la mortalité corrigée à travers l'axe 2 (4,27%), montre l'effet marquant du carvacrol sur la mortalité corrigée des individus par rapport au thymol. La même projection montre que la toxicité du carvacrol se distingue du traitement à base du limonène et exerce un effet mortel très remarquable. Les valeurs du coefficient de corrélation de PEARSON montrent la présence d'une corrélation négative entre le carvacrol et le limonène avec des valeurs respectives $r=-0,7507$ et $r=0,6544$ (Figure III.3a).

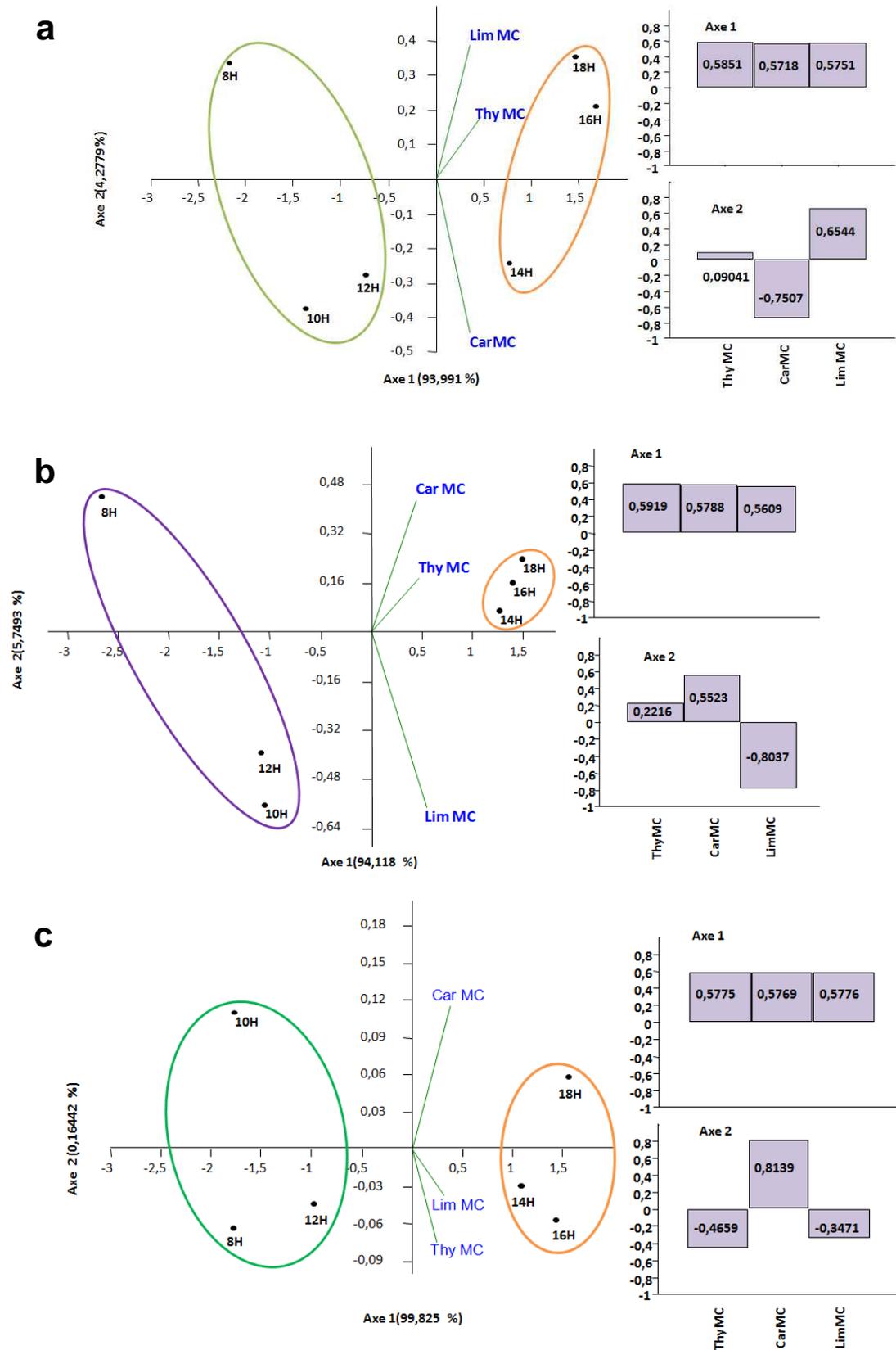


Figure III-3 .Tendance de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées. (a): 19°C, (b) : 25°C, (c) : 28°C

La projection des vecteurs sur le premier axe (94,11%) montre que toutes les molécules agissent tardivement sur la mortalité corrigée des populations de *Sitophilus oryzae*. (Figure III. 3 b). La projection des vecteurs à travers l'axe 1 montre que les 3 molécules présentent une mortalité corrigée avec une corrélation positive. En revanche, la projection des vecteurs à travers l'axe 2 (5,74%), montre que le limonène se distingue clairement des deux autres molécules. La même figure montre une différence d'efficacité nette des traitements du carvacrol et du thymol par rapport au limonène. Les valeurs du coefficient de corrélation de PEARSON confirment la présence d'une similarité entre le carvacrol et le thymol, quant au limonène, il manifeste une corrélation négative par rapport aux deux traitements étudiés

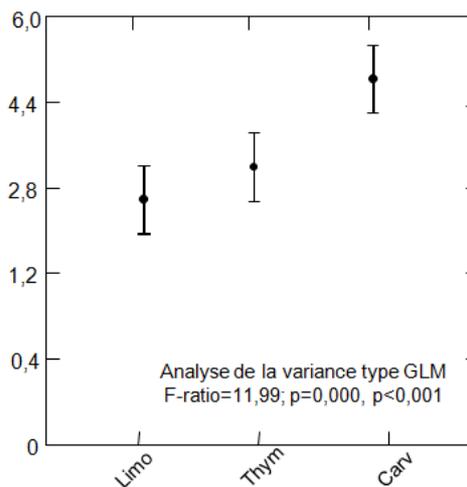
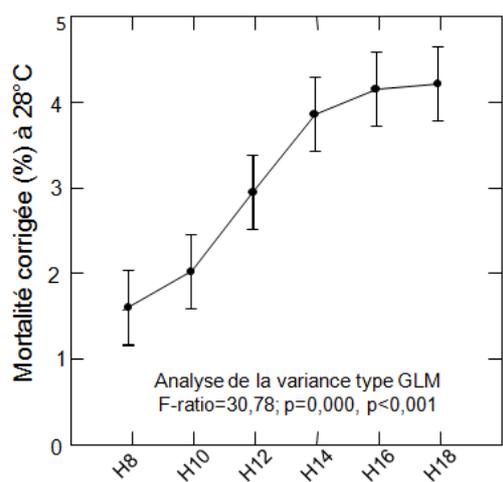
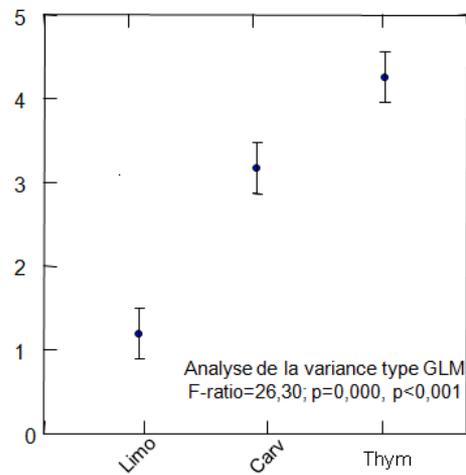
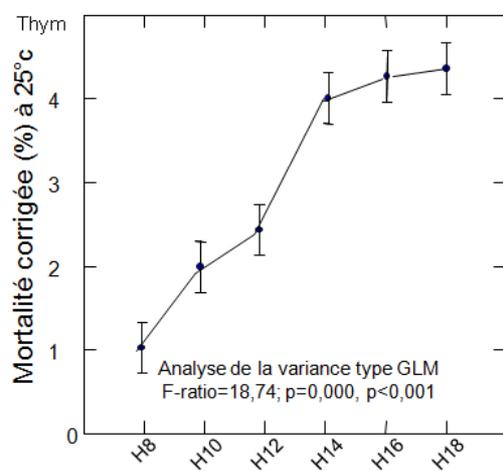
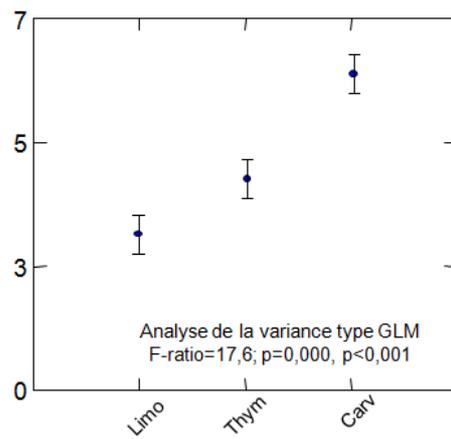
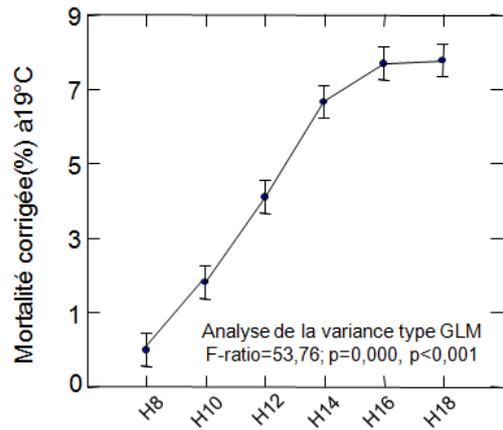
A 28°C, la projection des vecteurs à travers l'axe 1 montre que les 3 molécules présentent une mortalité corrigée avec une corrélation positive. La projection des vecteurs à travers l'axe 2 indique que le carvacrol se distingue du thymol et du limonène. Ces deux molécules sont corrélées négativement avec le carvacrol (Figure III.3 c).

4. Étude comparée de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulée

Le modèle général linéaire (G.L.M) a été utilisé afin de déterminer l'effet strict des traitements biologiques à base de molécules bioactives du thym et celui des agrumes sur les individus de *Sitophilus oryzae*. Ce modèle nous permet d'étudier l'effet individuel de chaque facteur sans l'intervention des interactions entre eux (Figure III-4)

À partir des résultats obtenus par ce modèle, nous remarquons que le facteur molécules bioactives (F-ratio=17,6, $p=0,000$, $p<0,001$), et le facteur temps (F-ratio=53,76, $p=0,000$, $p<0,001$) présentent une distinction hautement significative sur la mortalité des individus de *Sitophilus oryzae*. Pour le facteur temps, on note une progression de l'effet temporel à partir des premières heures du traitement pour se stabiliser à 16h. Pour le facteur traitement, on remarque une nette efficacité du taux de mortalité du carvacrol formulé sur les individus cibles, suivi du thymol et en dernier lieu du limonène (Figure III-4a).

Les résultats du modèle GLM sur la mortalité corrigée présentent une différence hautement significative selon le temps et le traitement pour la température 25°C. Concernant l'effet temporel les molécules bio actives montrent une toxicité progressive durant toute la période du suivi. Quant à l'effet traitement sur le taux de mortalité des individus de *Sitophilus oryzae*, il en ressort l'effet toxique important du thymol, suivi du carvacrol et la faible toxicité est marquée par le limonène (Figure III-4b).



Temps (Heures)

itelements (H.E.)

Figure III-4: Étude comparée de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* à différentes températures de stockage sous l'effet des huiles essentielles formulées. Car: Carvacrol, Limo: Limonene, Thym: Thymol

Globalement le modèle GLM appliqué à la mortalité corrigée montre que la température 19°C est la plus commode pour l'extériorisation de l'effet toxique du carvacrol et du thymol. Cette toxicité est très importante en termes de taux de mortalité dès 14h d'exposition (Figure III-5).

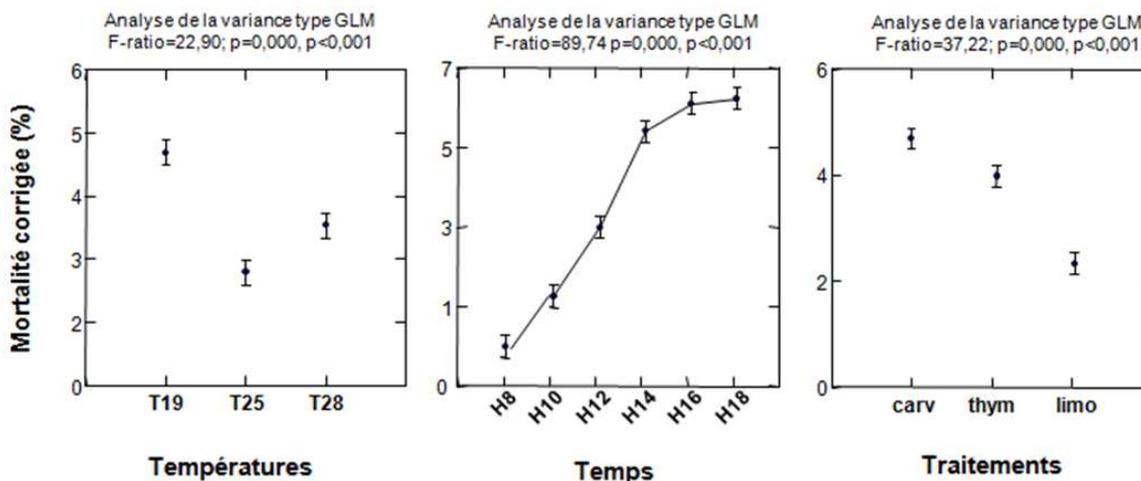


Figure (III-5) : GLM global des différents facteurs de température de stockage, temps et traitements sur la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae*.

Dans le but de visualiser la fluctuation de la mortalité corrigée de *Sitophilus oryzae* en fonction des différents régimes thermiques et selon les trois molécules bioactives testées nous avons eu recours au modèle ANOVA.

La figure (III-6) montre que le carvacrol à la température ambiante (19°C) a le plus d'effet biocide sur les individus de *Sitophilus oryzae*, suivi de la température 28°C et enfin la température 25°C qui manifeste l'effet toxique le plus faible sur les individus cibles. Pour le thymol, les températures 19°C et 25°C exercent le même effet biocide sur la mortalité corrigée qui est le plus important par rapport à la température 28°C. Concernant le limonène, la température 19°C affiche encore sa suprématie de l'effet toxique sur les individus de *Sitophilus oryzae*, suivi de la température 28°C puis celle de 25°C. (Figure III-5).

Analyse de la variance type ANOVA
F-ratio=8,49; p=0,00;p<0,001

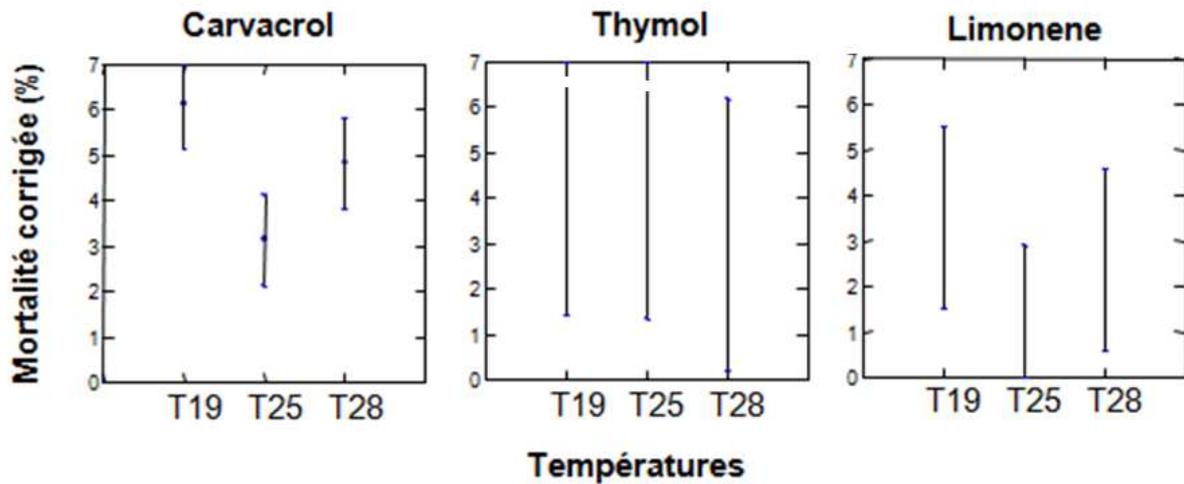


Figure (III-6) : Etude comparée de la mortalité corrigée des individus de *Sitophilus oryzae* sous l'effet de l'interaction des facteurs température et traitements.

La figure (III-7) montre clairement que la température ambiante (19°C) exprime son effet sur la toxicité des huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* à partir de 10h. L'activité biocide est accentuée par la même température à 12h, suivie de la température 28°C et en dernier s'affiche la température 25°C. A 14h, l'effet de la température 19°C atteint son maximum, arrive au second rang toujours la température 28°C et enfin celle de 25°C. A partir de 16h, nous remarquons que l'effet insecticide des trois molécules bioactives des ravageurs de denrées stockées se stabilise quelque soit la température.

Analyse de la variance type ANOVA
F-ratio=1,95; p=0,037, p<0,05

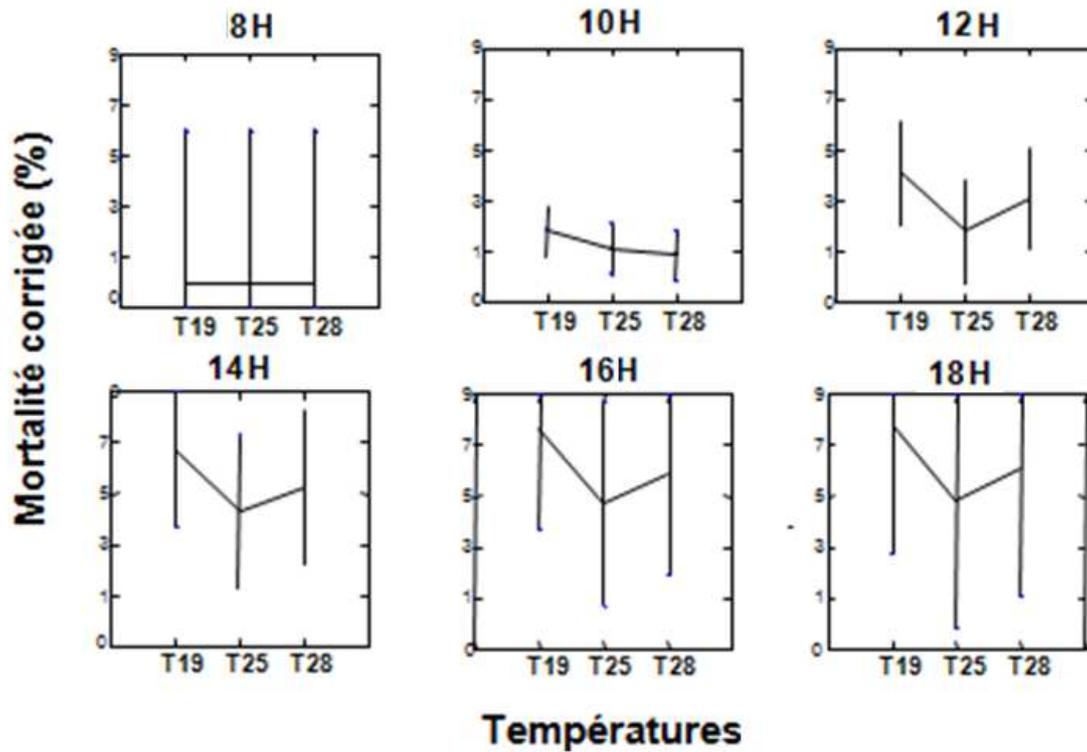


Figure (III-7): Etude comparée de la mortalité corrigée des individus de *Sitophilus oryzae* sous l'effet de l'interaction des facteurs température et temps.

DISCUSSION

Chapitre IV : Discussion générale

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées, en effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), elles synthétisent et accumulent perpétuellement des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source immense de molécules exploitables par l'homme dans des domaines aussi distincts que la pharmacologie, l'agroalimentaire ou encore en agriculture dans le cadre de la phytoprotection (**AUGER et THIBOUT , 2002**).

Actuellement, les huiles essentielles et les extraits aqueux des plantes commencent à avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ces produits font l'objet des études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides (**YAKHLEF, 2010**).

Dans cette optique la présente étude vise à mettre au point de nouvelles formulations à base d'huiles essentielles. Les résultats de l'évaluation de l'efficacité des formulations des huiles essentielles nous ont permis de dégager les hypothèses suivantes :

1-Effet des formulations des huiles essentielles sur *Sitophilus oryzae*

Le pourcentage de la mortalité des charançons obtenus après l'application des molécules bioactives de l'extrait de l'huile essentielle du thym (*Thymus fantanasii*) et celui du citronnier (*Citrus limonium*) ont montré un effet progressif des trois traitements utilisés s'étalant sur une période après traitement de 8h à 18h. Cependant, on note que l'huile essentielle appliquée au limonène formulé montre une faible toxicité au début de l'application estimée à 4,44% du taux de mortalité à 10h pour atteindre une toxicité moyenne atteignant les 44,44% du taux de mortalité à la fin de l'essai. Par contre, l'effet insecticide le plus élevé est enregistré avec le carvacrol formulé à un taux de 83,33% à la fin des observations.

Les résultats obtenus nous permettent d'avancer l'hypothèse de variabilité chémotypique des huiles essentielles expérimentées. Cette diversité constitutive des huiles essentielles du thym et d'agrumes serait certainement à la base de la différence d'efficacité. L'hypothèse avancée, rejoint de nombreuses études touchant aux caractéristiques des HE et par conséquent leurs effets biocides.

Une huile essentielle est un mélange complexe de plusieurs composés d'arômes volatils qui appartiennent à différentes classes de la chimie organique : phénols (carvacrol), hydrocarbures (composés terpéniques comme le limonène), alcools(linalol), aldéhydes(cinnamaldéhydes), cétone(menthone), esters(acétate de linalyle), et éthers. La plupart de ces composés est dotée de propriétés

antimicrobiennes, mais ce sont les composés volatils majeurs qui possèdent les propriétés biocide les plus importantes, et en particulier les phénols, les alcools et les aldéhydes : carvacrol (thym), thymol (thym). Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présenteront non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (**CAILLET et LACROIX., 2007**)

Les constituants de beaucoup d'huiles essentielles possèdent des activités neurotoxiques établis contre les insectes (**SANON et al., 2002**). Selon **SCHWÂMMALE et al. (2001)**, le Carvacrol, le thymol et d'autres phénols sont des composants principaux des huiles essentielles de certaines *Labiaceae* (*Lamiaceae*), comme l'origan, le thym dont la teneur peut atteindre jusqu'à 86%. La composition chimique des huiles essentielles varie qualitativement et quantitativement selon les chémotypes, par exemple chez *Thymus vulgaris* de la Méditerranée occidentale on trouve sept chémotypes différents à thymol, à carvacrol, à géraniol, à linalol, à terpinéol, à *trans*-4-thuyanol, à *cis*-8-myrcénol et à cinéol (**BRUNETON, 1999**).

Selon **CHIASSON et BELOIN. (2007)**, la composition chimique de l'huile essentielle varie d'une plante à une autre. D'après **DORMAN et al. (2000)**, le principal facteur modifiant l'activité insecticide des huiles essentielles est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents. Cependant, ce constat ne doit pas amener à penser que la toxicité d'une plante est obligatoirement liée à la nature du composé dominant. La présence de composés synergiques peut renforcer l'activité du principe actif (**NUTO, 1995**).

2. Evaluation de la toxicité des formulations des huiles essentielles sur *Sitophilus oryzae* sous l'effet de la température.

Les résultats acquis de cette étude montrent l'effet biocide des bioproduits formulés du thym et du citronnier vis-à-vis des individus de *Sitophilus oryzae* en fonction de différentes températures. En effet le biopesticide appliqué de *Thymus fantanasi* a un potentiel d'efficacité plus élevé sur les individus de *Sitophilus oryzae* par rapport au bioproduit traité à base de *Citrus limonium* durant toute la période de suivi des différentes températures. Le carvacrol formulé a marqué une meilleure efficacité pour la température 19° et 28°, le thym a enregistré une toxicité importante à une température de 25°. Par contre le limonène ex prime un effet toxique plus faible à l'égard du modèle biologique testé.

Les résultats obtenus nous mène à supposer que la différence d'efficacité des différentes formulations sur les charançons du riz est due principalement à l'effet toxique plus puissant des formulations à base du carvacrol et du thymol extraits du thym par rapport à celui du limonène issu du citronnier.

L'hypothèse avancée rejoint les travaux de plusieurs chercheurs qui se sont intéressé à l'effet biocide des plantes aromatiques. L'application des huiles essentielles fait partie des voies les plus explorées dans la régulation des stocks.

Leur toxicité s'exprime de différentes manières : activités ovicide, larvicide, antinutritionnelle et inhalatoire (**KEÏTA et al. 2000** ; **REGNAULT-ROGER et al, 2002**).

En effet Les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou. **ISMAN(1999)** émet cette hypothèse car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes à corps mou. C'est le cas du FACIN qui exerce une répression satisfaisante sur les thrips, les pucerons, les aleurodes et certains acariens et qui s'est avéré moins efficace avec des insectes à carapace dure tels que des coléoptères et hyménoptères adultes et certains acariens prédateurs.

Il reste à déterminer le mécanisme par lequel les huiles essentielles dégradent l'enveloppe externe de certains insectes et acariens. Le rôle de la cuticule est de prévenir les pertes hydriques. Elle est sécrétée par l'épiderme et comporte plusieurs couches dont la couche externe, composée de cires donnant les propriétés hydrofuges à la cuticule. Les molécules de cette couche cireuse présentent une rangée de groupes aliphatiques vers l'extérieur créant ainsi une couche hydrofuge et imperméable (**WIGGLESWORTH ,1972**). La nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduits de cette couche cireuse et sont affectées par l'huile essentielle ce qui peut entraîner l'asphyxie. Il reste à déterminer précisément le(s) site(s) de dégradation de l'enveloppe externe de l'insecte et de l'acarien et le type de dommage causé par l'application des huiles essentielles, par application topique ou par fumigation (**CHIASSON et BELOIN ., 2007**).

L'étude de l'activité insecticide des 11 huiles essentielles sur deux ravageurs de denrées stockées, *Rizopertha dominica* (F.) et *Sitophilus oryzae* (L.), a confirmé que la plupart des huiles essentielles étudiées présentent un pouvoir insecticide très important et plus particulièrement les huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L, *Mentha pulégium* L et *Thymus broussonetii* L Boiss. L'étude de la composition chimique de ces huiles essentielles a permis d'identifier les produits majoritaires de ces trois huiles essentielles : R(+)-pulégone produit majoritaire des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. (86%) et de *Mentha pulégium* L. (52,56%), Carvacrol et thymol sont les produits majoritaires de *Thymus broussonetii* Boiss respectivement à 36% et 31,1%. Ces trois produits ont montré une activité insecticide très forte, cependant, on peut conclure que cette activité est souvent liée à la composition chimique (**EL ARCH et al., 2005**).

Les huiles essentielles ont des effets antiappétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. **REGNAULT-ROGER et HAMRAOUI (1995)** ont observé l'effet du linalool, du thymol et du carvacrol sur la fécondité et le nombre d'œufs pondus de la bruche du haricot. Il y a eu également inhibition complète de la pénétration des larves dans les grains traités de linalool et de thymol. De plus, ce dernier produit s'est avéré inhibiteur de l'émergence des adultes.

D'après **BOUCHIKHI T. Z et al. (2011)**, les huiles essentielles extraites par hydrodistillation de la plante aromatique *Origanum glandulosum* (Lamiacées) ont été testées à différentes doses sur les adultes de trois bruches *Acanthoscelides obtectus* (bruche du haricot), *Bruchus rufimanus* (bruche de la fève), et *Callosobruchus maculatus* (bruche du pois-chiche), à une température de 27 °C et à une humidité relative de 75 %. Ces huiles présentent une activité insecticide et entraînent chez les femelles des trois bruches étudiés une réduction significative de la ponte par rapport à celle dans le témoin. Les DL50 calculées après 48h d'exposition, montrent que les huiles essentielles testées sont très toxiques sur *A. obtectus* avec DL50 = 1,44 µl/ 30 g de graines, présentent une toxicité un peu variable sur *C. maculatus* avec DL50 = 2,06 µl/ 30 g de graines, et moins toxique sur *B. rufimanus* avec DL50 = 7,72 µl/ 30 g de graines. L'analyse de la composition chimique montre la richesse des huiles essentielles en composés connus pour leurs propriétés insecticides comme l'α-pinène, limonène, carvacrol, et le thymol, ce qui explique les résultats obtenus.

CONCLUSION

Conclusion générale

Au terme de ce travail consacré essentiellement à l'étude de l'effet insecticide de trois molécules bioactives formulées cas du carvacrol, le thymol et le limonène sur la population de *Sitophilus oryzae* (Linn) soumise à des températures variées, il nous a paru de dégager les principaux résultats auxquels nous avons abouti.

Les résultats relatifs aux traitements biologiques par les deux huiles essentielles formulées et testées ont enregistrées une efficacité tardive et progressive durant toute la période du suivi. Cependant l'huile essentielle issue de la plante du thym a montré une très forte toxicité vis-à-vis du charançon du riz d'où une meilleure efficacité par rapport à l'huile essentielle d'agrumes sur la mortalité de *Sitophilus oryzae*

Quant à l'effet température, les résultats obtenus ont montré que le carvacrol formulé a marqué une meilleure efficacité pour la température 19°C et 28°C, le thymol a enregistré une toxicité importante à 25°C. En revanche, le limonène a affiché la plus faible efficacité de tout les chémotypes testés au cours de notre expérimentation.

Grace à ces résultats qui semblent intéressants, on peut conclure que l'huile essentielle formulée à base du thym exprimée par le carvacrol et le thymol, possède un effet insecticide certain se manifestant par les effets mortels sur les individus de *Sitophilus oryzae*.

Par contre, la formulation du limonène a montré un effet insecticide le plus faible effet sur la mortalité des mêmes individus du charançon du riz. Il est important à noter que la variation de thermique influence l'efficacité des traitements appliqués en signalant une meilleure efficacité à la température 19°C.

En perspectives, il serait intéressant d'évaluer dans des études ultérieures :

- Elargir les effets d'efficacité sur d'autres modèles biologiques notamment les parasites relatifs à la santé humaine (mouches, moustiques, fourmis).
- Évaluation des effets des huiles essentielles sur la qualité organoleptique et nutritionnelle du blé en menant les enquête au près des consommateurs à propos des intérêts et l'importance de leur application.
- Étendre nos expériences à toutes les espèces de ravageurs qui attaquent les grains de blé en post-récolte et aux ennemis naturels.