



**THESE DE DOCTORAT**  
**es Sciences**  
**Spécialité : BIOLOGIE**

*Intitulée :*

**Activité Biologique des Principaux**  
**Constituants de l'Huile d'Olive de Kabylie sur**  
***Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae)**

*Présentée par : AIT AIDER Farida Née KACI*

*Devant le Jury :*

|                     |                              |                 |            |
|---------------------|------------------------------|-----------------|------------|
| <b>AMROUN M.</b>    | Professeur                   | UMM Tizi-Ouzou  | Président  |
| <b>KELLOUCHE A.</b> | Professeur                   | UMM Tizi-Ouzou  | Rapporteur |
| <b>CHAKALI G.</b>   | Professeur                   | ENSA El Harrach | Examineur  |
| <b>DJENNANE D.</b>  | Professeur                   | UMM Tizi-Ouzou  | Examineur  |
| <b>DOUZANE M.</b>   | Maître de<br>Conférences (A) | INRA Alger      | Examineur  |
| <b>NABIEV M.N.</b>  | Professeur                   | UMB Boumerdes   | Examineur  |

**Année Universitaire 2016/2017**

*« La nature ne fait pas de sauts »*

---

*Natura non facit saltus*

**G.W. Leibniz**

# TABLE DES MATIERES

|   |           |
|---|-----------|
| <b>LISTE DES TABLEAUX</b>   | v         |
| <b>LISTE DES FIGURES</b>  | vi        |
| <b>LISTE DES PHOTOS</b>   | viii      |
| <b>LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES</b>                            | ix        |
| <b>INTRODUCTION</b>   | 1         |
| <b>CHAPITRE 1: Revue Bibliographique</b>                              | <b>6</b>  |
| 1.1- La Plante hôte: Le niébé   | 7         |
| 1.1.1 <i>Origine et répartition géographique</i>                      | 7         |
| 1.1.2 <i>Systématique</i>   | 8         |
| 1.1.3 <i>Botanique et écologie du niébé</i>                           | 8         |
| 1.1.4 <i>Valeurs alimentaires et intérêts agronomiques</i>            | 10        |
| 1.1.5 <i>Entomo-faune nuisible du niébé</i>                           | 11        |
| 1.2- Présentation de l'insecte  | 13        |
| 1.2.1 <i>Les Coléoptères Bruchidae</i>                                | 13        |
| 1.2.2 <i>La bruche du niébé (Callosobruchus maculatus)</i>            | 14        |
| 1.2.3 <i>Les dégâts causés par C. maculatus</i>                       | 22        |
| 1.2.4 <i>Moyens de lutte</i>  | 23        |
| <b>CHAPITRE 2: Protocole Expérimental</b>                             | <b>32</b> |
| 2.1- Introduction   | 33        |
| 2.2- Matériel utilisé   | 34        |
| 2.2.1 <i>Le substrat utilisé, le niébé</i>                            | 34        |
| 2.2.2 <i>La bruche du niébé</i>                                       | 34        |
| 2.2.3 <i>L'huile d'olive</i>  | 35        |
| 2.2.4 <i>Composition chimique</i>                                     | 36        |
| 2.3- Méthodes   | 39        |
| 2.3.1 <i>Analyse de l'huile d'olive</i>                               | 39        |
| 2.3.2 <i>Préparation des différents traitements</i>                   | 41        |
| 2.3.3 <i>Observations au microscope électronique à balayage (MEB)</i> | 43        |
| 2.3.4 <i>Tests biologiques</i>  | 43        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>CHAPITRE 3: Analyse des Résultats</b>   | <b>50</b> |
| <b>3.1- Mesure du potentiel insecticide des traitements</b>  | <b>51</b> |
| <b>3.1.1 Tests par contact</b>   | <b>51</b> |
| <b>3.1.2 Tests sur les larves évoluant dans les graines de niébé (Effets curatifs)</b>                       | <b>63</b> |
| <b>3.2- Impact des traitements sur les graines de niébé</b>  | <b>71</b> |
| <b>3.2.1 Pertes en poids et faculté germinative</b>  | <b>71</b> |
| <b>3.2.2 Valeur nutritive des graines traitées</b>   | <b>74</b> |
| <b>3.3- Rémanence des traitements</b>  | <b>77</b> |
| <b>3.3.1 Rémanence de l'huile d'olive et de l'acide oléique à l'égard de <i>C. maculatus</i></b>             | <b>77</b> |
| <b>3.3.2 Effet rémanent de l'huile d'olive et de l'acide oléique sur la germination des graines de niébé</b> | <b>81</b> |
| <b>3.3.3 Discussion des résultats des tests de rémanence</b>   | <b>81</b> |
| <b>CONCLUSION GENERALE</b>   | <b>83</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>   | <b>87</b> |
| <b>ANNEXES</b>   | <b>99</b> |

## LISTE DES TABLEAUX

|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Tab. 1.1</b>  | Entomo-faune nuisible à la culture du niébé  | <b>12</b> |
| <b>Tab. 1.2</b>  | Mensuration et durée des différents états et stades larvaires de <i>C. maculatus</i>   | <b>19</b> |
| <b>Tab. 1.3</b>  | Quelques poudres utilisées dans la lutte contre les ravageurs des denrées stockées   | <b>29</b> |
| <b>Tab. 2.1</b>  | Propriétés physiques et chimiques des principaux acides gras (ANONYME1, 2015)  | <b>39</b> |
| <b>Tab. 2.2</b>  | Les différents traitements effectués sur les graines de niébé  | <b>43</b> |
| <b>Tab. 3.1</b>  | Test de Shapiro Wilks (Paramètres biologiques)   | <b>52</b> |
| <b>Tab. 3.2</b>  | Résultats de l'analyse de la variance (seuil de 5%) de l'effet de l'huile d'olive (HO) sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i>   | <b>65</b> |
| <b>Tab. 3.3</b>  | Résultats du test NEWMAN et KEULS, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'huile d'olive (HO), suivant le facteur dose sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i>                   | <b>65</b> |
| <b>Tab. 3.4</b>  | Résultats du test NEWMAN et KEULS, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'huile d'olive (HO), suivant le stade larvaire traité sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i>          | <b>66</b> |
| <b>Tab. 3.5</b>  | Résultats du test NEWMAN et KEULS, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'huile d'olive (HO), suivant l'interaction dose-stade larvaire sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i> | <b>66</b> |
| <b>Tab. 3.6</b>  | Résultats de l'analyse de la variance (seuil de 5%) de l'effet de l'acide oléique (AO) sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i>   | <b>68</b> |
| <b>Tab. 3.7</b>  | Résultats du test NEWMAN et KEULS, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'acide oléique (AO), suivant le facteur dose sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i>                   | <b>68</b> |
| <b>Tab. 3.8</b>  | Résultats du test NEWMAN et KEULS, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'acide oléique (AO), suivant le stade larvaire traité, sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i>         | <b>69</b> |
| <b>Tab. 3.9</b>  | Résultats du test NEWMAN et KEULS, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'acide oléique (AO), suivant l'interaction dose-stade larvaire sur la viabilité post embryonnaire de <i>C. maculatus</i> | <b>69</b> |
| <b>Tab. 3.10</b> | Test de Shapiro Wilks (Paramètres agronomiques)  | <b>71</b> |
| <b>Tab. 3.11</b> | Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile d'olive testée dans le temps  | <b>74</b> |
| <b>Tab. 3.12</b> | Composition nutritionnelle des graines de niébé saines et traitées à l'huile d'olive après 3 mois de conservation  | <b>75</b> |
| <b>Tab. 3.13</b> | Test de Shapiro Wilks (Rémanence des traitements)  | <b>77</b> |

## LISTE DES FIGURES

|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Fig. 2.1</b>  | Elevage de masse de <i>C. maculatus</i> (Laboratoire d'Entomologie Appliquée, UMMTO)   | <b>35</b> |
| <b>Fig. 2.2</b>  | Structure de l'acide oléique (RAISONNIER, 2010)  | <b>37</b> |
| <b>Fig. 2.3</b>  | Structure de l'acide linoléique (RAISONNIER, 2010)   | <b>37</b> |
| <b>Fig. 2.4</b>  | Structure de l'acide palmitique (RAISONNIER, 2010)   | <b>38</b> |
| <b>Fig. 2.5</b>  | Structure de l'acide stéarique (RAISONNIER, 2010)  | <b>38</b> |
| <b>Fig. 2.6</b>  | Chromatogramme de la composition en acides gras de l'huile d'olive déterminée par GPC/FID  | <b>40</b> |
| <b>Fig. 2.7</b>  | Tests par contact (Laboratoire d'Entomologie Appliquée, UMMTO)   | <b>41</b> |
| <b>Fig. 2.8</b>  | Cristaux des acides palmitique et stéarique  | <b>42</b> |
| <b>Fig. 2.9</b>  | Test de germination des graines de <i>V. unguiculata</i>   | <b>45</b> |
| <b>Fig. 3.1</b>  | Fluctuations des valeurs de la longévité pour les différents traitements   | <b>52</b> |
| <b>Fig. 3.2</b>  | Fluctuations des valeurs de la fécondité pour les différents traitements   | <b>53</b> |
| <b>Fig. 3.3</b>  | Fluctuations du nombre d'œufs éclos pour les différents traitements  | <b>53</b> |
| <b>Fig. 3.4</b>  | Fluctuations du nombre de descendants dans les différents traitements  | <b>54</b> |
| <b>Fig. 3.5</b>  | Diagramme en boîtes Longévité/Doses  | <b>55</b> |
| <b>Fig. 3.6</b>  | Diagramme en boîtes Fécondité/Doses  | <b>56</b> |
| <b>Fig. 3.7</b>  | Taux de fécondité et d'éclosion des œufs-Traitements et Doses  | <b>56</b> |
| <b>Fig. 3.8</b>  | Diagramme en boîtes Emergences/Doses   | <b>57</b> |
| <b>Fig. 3.9</b>  | Photographie au MEB des stigmates respiratoires des adultes de <i>C. maculatus</i>   | <b>59</b> |
| <b>Fig. 3.10</b> | Photographie au MEB de la partie postérieure de l'œuf  | <b>61</b> |
| <b>Fig. 3.11</b> | Photographie au MEB du premier stade larvaire de <i>C. maculatus</i>   | <b>62</b> |
| <b>Fig. 3.12</b> | Nombre d'adultes de <i>C. maculatus</i> émergés dans les traitements à base d'huile d'olive (HO) des graines infestées par les différents stades larvaires | <b>64</b> |
| <b>Fig. 3.13</b> | Nombre d'adultes de <i>C. maculatus</i> émergés après traitement avec l'acide oléique (AO) des différents stades larvaires                                 | <b>67</b> |
| <b>Fig. 3.14</b> | Pertes en poids (%) en fonction du type de traitement  | <b>72</b> |
| <b>Fig. 3.15</b> | Taux de germination (%) en fonction du type de traitement  | <b>73</b> |
| <b>Fig. 3.16</b> | Rémanence des traitements sur la longévité des adultes de <i>C. maculatus</i>  | <b>78</b> |
| <b>Fig. 3.17</b> | Rémanence des traitements sur la fécondité de <i>C. maculatus</i>  | <b>79</b> |

|                  |   |           |
|------------------|---|-----------|
| <b>Fig. 3.18</b> | Rémanence des traitements sur le taux d'éclosion des œufs de <i>C. maculatus</i>      | <b>79</b> |
| <b>Fig. 3.19</b> | Rémanence des traitements sur la descendance des adultes de <i>C. maculatus</i>       | <b>80</b> |
| <b>Fig. 3.20</b> | Effet rémanent des traitements sur la germination des graines de <i>V unguiculata</i> | <b>81</b> |

## LISTE DES PHOTOS

|                    |  |           |
|--------------------|--|-----------|
| <b>Photo. 1.1</b>  | Plantes de <i>V. unguiculata</i> (ANONYME 1, 2011)   | <b>9</b>  |
| <b>Photo. 1.2</b>  | Gousses de <i>V. unguiculata</i> (ANONYME 1, 2011)   | <b>10</b> |
| <b>Photo. 1.3</b>  | Graines de <i>V. unguiculata</i> (Originale)   | <b>11</b> |
| <b>Photo. 1.4</b>  | Les œufs de <i>C. maculatus</i> pondus sur la graine de niébé (Photo originale) (Grx10)                                  | <b>15</b> |
| <b>Photo. 1.5</b>  | Larve L1 de <i>C. maculatus</i> sous le chorion de l'œuf (Photo originale) (Grx20)                                       | <b>16</b> |
| <b>Photo. 1.6</b>  | Larve L2 de <i>C. maculatus</i> (Photo originale) (Grx80)  | <b>17</b> |
| <b>Photo. 1.7</b>  | Larve L3 de <i>C. maculatus</i> (Photo originale) (Grx80)  | <b>17</b> |
| <b>Photo. 1.8</b>  | Larve L4 de <i>C. maculatus</i> (Photo originale) (Grx10)  | <b>18</b> |
| <b>Photo. 1.9</b>  | Nymphe de <i>C. maculatus</i> (Photo originale) (Grx20)  | <b>19</b> |
| <b>Photo. 1.10</b> | Adultes de <i>C. maculatus</i> (A) Femelle et (B) Mâle Grx10)  | <b>20</b> |
| <b>Photo. 1.11</b> | Les plaques abdominales postérieures (pygidium) chez le mâle et la femelle de <i>C. maculatus</i> (BECK et BLUMER, 2014) | <b>21</b> |
| <b>Photo. 1.12</b> | Les dégâts causés par <i>C. maculatus</i> (Photo originale)  | <b>23</b> |

## LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| <b>AGMI</b>                        | Acide Gras Mono- Insaturé  |
| <b>AGPI</b>                        | Acide Gras Poly- Insaturé  |
| <b>AGS</b>                         | Acide Gras Saturé  |
| <b>AL</b>                          | Acide Linoléique   |
| <b>AO</b>                          | Acide Oléique  |
| <b>AP</b>                          | Acide Palmitique   |
| <b>AS</b>                          | Acide Stéarique  |
| <b>C11</b>                         | Acide Undécylénique  |
| <b>C18</b>                         | Acide Oléique  |
| <b>C-C</b>                         | Liaison Carbone-Carbone  |
| <b>CLHP</b>                        | Chromatographie Liquide à Haute Performance  |
| <b>CO<sub>2</sub></b>              | Dioxyde de Carbone   |
| <b>COI</b>                         | Conseil Oléicole International   |
| <b>CPG</b>                         | Chromatographe en Phase Gazeuse  |
| <b>DDT</b>                         | Dichlorodiphényltrichloroéthane  |
| <b>ENPEI</b>                       | Ecole Nationale Préparatoire aux Etudes d'Ingénieurs   |
| <b>ESEM</b>                        | Environmental Scanning Electron Microscopy   |
| <b>F1</b>                          | Individus de la première génération  |
| <b>FAO</b>                         | Food and Agriculture Organisation<br>(Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation) |
| <b>FID</b>                         | Flame Ionization Detector (Déecteur à ionisation de flamme)  |
| <b>FIDA</b>                        | Fond International de Développement Agricole   |
| <b>GST</b>                         | Glutathion-S-Transferase   |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> | Acide sulfurique   |
| <b>HCl</b>                         | Acide Chlorhydrique  |
| <b>HO</b>                          | Huile d'Olive  |
| <b>IIAT</b>                        | Institut International d'Agriculture Tropicale   |

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| <b>IP</b>                         | Indice de peroxyde  |
| <b>IGRs</b>                       | Insect Growth Regulators (Régulateurs de croissance des insectes) |
| <b>IRAD</b>                       | Institut de Recherche Agricole pour le Développement (Cameroun)   |
| <b>KI</b>                         | Iodure de potassium   |
| <b>L1</b>                         | Larve du premier stade  |
| <b>L2</b>                         | Larve du deuxième stade   |
| <b>L3</b>                         | Larve du troisième stade  |
| <b>L4</b>                         | Larve du quatrième stade  |
| <b>LEA</b>                        | Laboratoire d'Entomologie Appliquée                               |
| <b>LPCQ</b>                       | Laboratoire de Physique et Chimie Quantique                       |
| <b>MAG</b>                        | Mélange des Acides Gras   |
| <b>MAT</b>                        | Matière Azotée Totale   |
| <b>MEB</b>                        | Microscope Electronique à Balayage                                |
| <b>MPE</b>                        | Masse de Prise d'Essai  |
| <b>MS</b>                         | Matière Sèche   |
| <b>N (%)</b>                      | Pourcentage d'azote   |
| <b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b> | Ion d'ammonium  |
| <b>PAM</b>                        | Programme Alimentaire Mondial                                     |
| <b>PMG</b>                        | Pourcentage de Matières Grasses                                   |
| <b>PPT</b>                        | Pourcentage de Protéines Totales                                  |
| <b>SEM</b>                        | Scanning Electron Microscopy                                      |
| <b>TC</b>                         | Taux de Cendres   |
| <b>TE</b>                         | Teneur en Eau   |
| <b>TG</b>                         | Taux de Glucides  |
| <b>UV</b>                         | Ultra Violet  |
| <b>UMMTO</b>                      | Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou                          |
| <b>VE</b>                         | Valeur Energétique  |
| <b>W</b>                          | Tungstène   |

## REMERCIEMENTS

*Je voudrais commencer par remercier très chaleureusement mon directeur de thèse, le Professeur KELLOUCHE A. pour ses compétences, sa disponibilité et pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire (Entomologie appliquée 2). Il a dirigé ce travail de recherche avec toute la rigueur scientifique qu'on lui connaît. Ses conseils avisés ont été toujours très constructifs et m'ont permis de bien entreprendre le travail de thèse.*

*Je remercie également le professeur AMROUN M. pour l'honneur qu'il me fait de présider ce jury de thèse. Que tous les autres membres du jury, Mme DOUZANE M. (maitre de conférences A), le professeur CHAKALI G., le professeur DJENNANE D. ainsi que le professeur NABIEV M.N. trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.*

*A JUDI et CHERIF des USA, je leurs adresse mes compliments les plus sincères pour leur disponibilité et leur amabilité.*

*J'adresse mes remerciements à Mme HAMZAOUI (Ecole nationale préparatoire aux études d'ingéniorat de Rouiba) pour son expertise dans le domaine chromatographique, à Mr AMIROUCHE S. (laboratoire de physique et de chimie quantique de l'UMMTO) pour les photos réalisées en microscopie électronique à balayage.*

# **INTRODUCTION**

---

## **INTRODUCTION**

---

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walpers, est la légumineuse vivrière la plus cultivée dans beaucoup de pays d'Afrique et dans certains pays en voie de développement (**BORGET, 1989; SINGH et al., 2000**). Sur le plan alimentaire, cette plante représente une importante source de protéines et d'énergie tant pour les hommes que pour les animaux. Le niébé constitue sûrement la source principale de protéines accessibles pour les populations des régions pauvres d'Afrique où les protéines d'origine animale sont rarement consommées. Ainsi, le niébé est devenu le substitut fortuné susceptible de combler ce manque protéique. D'ailleurs, durant ces dernières années, la **FAO** n'a pas cessé de vanter cette légumineuse lors des rencontres internationales sur l'alimentation dans le monde pour ses qualités nutritionnelles (**FAO, 2008**). En effet, cet aliment très riche en nutriments, avec une teneur en protéines allant jusqu'à 25% et en glucides de 60 à 65%, représente l'une des meilleures et des moins onéreuses solutions qui peut contribuer de manière significative à la sécurité alimentaire mondiale.

Les éléments fondamentaux de la sécurité alimentaire sont l'augmentation des rendements et la diminution des pertes de récolte ainsi que la recherche de produits agricoles à valeur nutritive consistante et rassurante (**STAMOULIS et ZEZZA, 2003; FAO, FIDA et PAM, 2015**). Malheureusement, les légumineuses subissent maintes attaques de multiples ravageurs et de nombreuses maladies aussi bien en culture que

dans les entrepôts de stockage des grains. C'est le cas du niébé qui est envahi par des insectes nuisibles pouvant porter préjudice à sa culture et à la qualité nutritive de ses graines. Le plus redoutable de ces bioagresseurs est sans aucun doute *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae), la bruche du niébé, pouvant détruire la totalité des récoltes en moins de huit mois de stockage (**LIENARD et SECK, 1994**).

En effet, l'infestation commence dans les champs au niveau des gousses mûres où les adultes déposent leurs œufs puis la multiplication des populations s'accélère dans les entrepôts et accentue les dommages infligés à cette culture. Après éclosion, la larve poursuit son développement à l'intérieur de la graine en dévorant les cotylédons, provoquant ainsi d'énormes dégâts (**SINGH et ALLEN, 1979**). Ce ravageur occasionne des pertes très significatives sur la légumineuse par une réduction directe du poids sec, mais également une diminution de la viabilité des semences et de la valeur marchande des graines, suite au développement de moisissures qui les rendent impropres à la consommation humaine (**BISCHOFF, 1992 in KELLOUCHE, 2005**).

*C. maculatus*, comme certains autres ravageurs, constituent donc un frein majeur à la consommation et au développement de la production du niébé. Afin de protéger et de conserver correctement les récoltes du niébé, la méthode de lutte la plus efficace, très souvent utilisée contre les insectes ravageurs des grains stockés, utilise les insecticides de synthèse. Très rapidement, l'intronisation de ces intrants chimiques avait vite séduit et conditionné les fermiers contraints d'abandonner les autres moyens de lutte, jugés moins actifs (**LIENARD et SECK, 1994; GUEYE et al., 2011**). Mais avec le temps, et malgré toutes les prouesses réalisées ici et là par ces pesticides, les agriculteurs finiront par se rendre à l'évidence que ces produits peuvent induire une intoxication chronique des consommateurs, une résistance chez les ravageurs et avoir un impact négatif sur l'environnement (**VAN DER WERF, 1996 et JUC, 2008**). La question de l'utilisation des insecticides est devenue aujourd'hui une grave préoccupation pour les pouvoirs publics.

Pour tenter de répondre à ces interrogations, certaines méthodes de lutte plus respectueuses de l'environnement et plus rassurantes sur la santé, telles que: la lutte biologique, la phytothérapie, la méthode traditionnelle et autres ont été revisitées. L'urgence actuelle est de trouver une alternative à l'usage des pesticides conventionnels, en particulier dans les locaux de stockage des denrées alimentaires. C'est dans ce contexte que de nombreux chercheurs testent les possibilités d'utilisation de substances naturelles considérées comme efficaces, moins toxiques et moins

polluantes que les insecticides de synthèse (**REGNAULT-ROGER et al., 2002; DOUMMA et al., 2011**). L'usage de substances naturelles en tant que biopesticides, comme les huiles végétales, a d'ailleurs fait l'objet de nombreuses investigations en vue d'explorer et d'apprécier leur activité biologique à l'encontre des principaux insectes ravageurs des graines stockées (**AHMED et al., 1999; KELLOUCHE et al., 2004; BAMAIYI et al., 2006; KELLOUCHE et al., 2010; ABDOUL HABOU et al., 2014**).

Pour l'huile d'olive, plutôt connue pour être un élément clé du régime alimentaire méditerranéen, plusieurs vertus lui sont attribuées, elles sont de nature médicale, esthétique, phytothérapique, etc... Dans le registre de la protection des graines stockées, en Algérie et dans tout le bassin méditerranéen, l'utilisation de cette huile remonte à l'antiquité. Bien qu'un certain nombre de travaux aient pu montrer quelques effets phytoprotecteurs de cette huile végétale, ses principes actifs doivent être extraits et faire objet d'investigations plus approfondies (**KELLOUCHE et al., 2004; ABDULLAHI et al., 2011; NANA et al., 2014; WAHEDI et al., 2015**). Des propriétés physiques de l'huile d'olive peuvent résulter plusieurs types de toxicité: une toxicité par inhalation due à la volatilité de certains de ses composés, une toxicité de contact due au film déposé sur la cuticule de l'insecte qui finit par l'asphyxier et une pénétration en profondeur issue de son caractère amphibolique. Les constituants de l'huile d'olive concourent également à son effet insecticide. La toxicité des acides gras s'exerce par la rupture des membranes cellulaires de la cuticule de l'insecte (**WEINZEIRL, 1998**).

Cette investigation a pour objectif de confirmer les vertus phytoprotectrices de l'huile d'olive locale à l'égard de *C. maculatus*, qui lui sont d'ailleurs attribuées depuis fort longtemps. Ensuite, il faut identifier les acides gras les plus actifs de cette substance naturelle et les isoler pour évaluer leurs propriétés insecticides. L'activité bioinsecticide de chaque constituant, sur certains paramètres biologiques de la bruche, sera évaluée et fournira des informations sur ses capacités phytosanitaires. Une fois les valeurs insecticides établies et appréciées sur un traitement donné (soit l'huile d'olive, soit l'un ou plusieurs de ses constituants), il est indispensable de mesurer l'impact des traitements sur la faculté germinative et la valeur nutritive de la graine. Et comme les graines sont aussi appelées à être conservées et protégées pour des périodes plus ou moins longues, des essais sur la rémanence de chacun des composés actifs doivent être réalisés pour apporter des indications sur la fréquence des traitements à entreprendre. L'ensemble des informations récoltées seraient nécessaires pour une sélection des

produits phytosanitaires les plus adéquats pour la protection des graines et qui pourraient être proposés comme substituts, au moins partiellement, à l'usage des pesticides contre les principaux insectes ravageurs dans les entrepôts de stockage.

# **CHAPITRE 1**

## **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## CHAPITRE 1

### REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

---

#### 1.1- LA PLANTE HÔTE : LE NIEBE

##### 1.1.1 Origine et répartition géographique

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., est la plus importante légumineuse à graines cultivées dans les zones de la savane tropicale. Il est originaire d'Afrique, où l'on trouve une grande diversité génétique chez le type sauvage sur tout le continent, l'Afrique australe étant la plus riche. Il a été introduit à Madagascar et sur d'autres îles de l'océan Indien. Mais c'est en Afrique de l'ouest que l'on trouve la plus grande diversité génétique du niébé cultivé dans les savanes du Burkina-Faso, du Ghana, du Togo, du Bénin, du Niger, du Nigéria et du Cameroun (**MADAMBA et al., 2006**).

Le niébé fût probablement introduit en Europe vers 300 avant J.C et en Inde vers 200 avant J.C. Probablement conduit en Amérique tropicale au XVII<sup>ème</sup> siècle par les espagnols, le niébé est également cultivé aux Etats Unis, aux Caraïbes et au Brésil (**MADAMBA et al., 2006**). *V. unguiculata* est appelé communément niébé en Afrique, cowpea en Amérique, dolique en Europe et en Algérie, haricot Kabyle au Nord, Tadelaght au Sud Ouest, Metlili et Tidellaghine à Ouargla. **BARNARD (1969; in SKERMAN, 1982)** a subdivisé l'espèce *V. unguiculata* en 3 principaux groupes:

- Variété *sinensis*, niébé commun, cultivé, de longueur moyenne, à gousses pendantes et graines de taille moyenne, arrondies et réniformes.

- Variété *sesquipedalis*, haricot kilomètre, à gousses pendantes de 1m de long et à graines allongées réniformes.
- Variété *cylindrica* ou *catjang* qui a de courtes gousses érigées et de petites graines oblongues ou cylindriques.

### 1.1.2 Systématique

Selon **CRONQUIST (1981)**, *V. unguiculata* appartient à la systématique suivante:

|               |  |
|---------------|--|
| ✓ Règne       | Plantae                                    |
| ✓ Sous règne  | Tracheobionta                              |
| ✓ Division    | Magnoliophyta                              |
| ✓ Classe      | Magnoliopsida                              |
| ✓ Sous classe | Rosidae                                    |
| ✓ Ordre       | Rosales                                    |
| ✓ Famille     | Fabaceae                                   |
| ✓ Genre       | <i>Vigna</i>                               |
| ✓ Espèce      | <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp., 1843. |

### 1.1.3 Botanique et écologie du niébé

Le niébé est une plante herbacée, annuelle et autogame à plus de 98% (**FERY, 1985; ADAM, 1986**). Il présente de grandes variabilités morphologiques en relation avec le nombre important de ses variétés (**PASQUET et FOTSO, 1994; BAUDOIN, 2001; KOUAKOU et al., 2007; DOUMMA et al., 2011**). Le niébé est une espèce diploïde, avec  $2n = 22$  chromosomes de petite taille, comme chez la plupart des espèces de Phaseolinae (**MARECHAL et al., 1978**).

Le port végétal peut être semi dressé, rampant ou grimpant. Les tiges de section circulaire sont grêles, parfois cannelées et glabres. Les feuilles alternes trifoliolées sont lisses, peu brillantes à brillantes avec des stipules ovales éperonnées à la base. Les folioles ovales ou rhomboïdes à lancéolées, sont généralement entières, parfois lobées. La racine est en général bien développée et les racines secondaires portent des nodosités renfermant des bactéries fixatrices d'azote atmosphérique (**Photo 1.1**). Les fleurs du niébé sont hermaphrodites et de couleur variable, blanc, jaune, bleu pâle ou

violacée. Les cultivars ont des pédoncules moyens (20 cm) ou très longs (50 cm) sur lesquels de nombreux racèmes prennent naissance. La présence d'un long axe floral est l'un des caractères les plus distinctifs du niébé par rapport à d'autres espèces. Cette caractéristique facilite aussi bien la récolte mécanique que manuelle. Les gousses, lisses, indéhiscentes, longues de 15 à 20 cm, plus ou moins cylindriques et quelques fois incurvées, sont dressées par paires formant un V. A l'état sec, elles sont jaunes-blanchâtres, mais d'autres variétés peuvent présenter une coloration brune ou pourpre (**Photo 1.2**). Les graines, au nombre de 8 à 20 par gousse et de forme ellipsoïde, sont plus ou moins arrondies. Les couleurs variétales oscillent du blanc, marron, rougeâtre ou presque noir au grivelé ou bariolé irrégulièrement tacheté. Certaines variétés ont spécifiquement une tache noir sur le hile. La germination du niébé est épigée. Les cotylédons sont oblongs et épais. Les deux premières feuilles simples et opposées, les suivantes sont alternes et trifoliolées. La germination prend 3 à 5 jours à des températures supérieures à 22 °C, la température optimale est de 35 °C (**MADAMBA et al., 2006**).



Photo 1.1 : Plantes de *V. unguiculata* (ANONYME 1, 2011)



Photo 1.2 : Gousses de *V. unguiculata* (ANONYME 1, 2011)

Le niébé est une plante thermophile puisqu'il se développe dans les conditions de chaleur et de luminosité intense. Les températures optimales de son développement se situent entre 25 et 28°C durant tout le cycle et une pluviométrie allant de 750 mm à 1000 mm. Le niébé est tolérant à la sécheresse et à la salinité du sol. Il peut se développer sous des conditions environnementales variées, même sur des sols pauvres en azote. Par contre cette culture ne supporte pas le gel et des températures supérieures à 35 °C provoquent la chute des fleurs et des gousses. Il peut être cultivé soit seul, soit en association avec d'autres cultures. Il s'adapte bien aux zones tropicales sèches à faible pluviométrie (300 à 600 mm), et n'est pas exigeant en sol, mais croît assez convenablement sur des sols sablo-limoneux bien drainés (SKERMAN, 1982).

#### 1.1.4 Valeurs alimentaires et intérêts agronomiques

Le niébé est une importante denrée de base pour les populations vivant dans les pays en développement. Les multiples usages de la plante, mis au point par les populations et diverses recettes variant d'un pays à l'autre, en témoignent (MADAMBA *et al.*, 2006).

Sur le plan nutritionnel, ses graines sont riches en glucides (56,8 % du poids sec) et surtout en protéines (20 à 25 % du poids sec) (**Photo 1.3**). Elles présentent une valeur alimentaire supérieure à celle de la plupart des céréales (mil, riz, sorgho, maïs). Leur teneur globale en protéines est deux à trois fois supérieure à celle des céréales. Elles renferment non seulement les acides aminés indispensables à l'alimentation humaine mais également la lysine dont les céréales sont pauvres. Elles sont, cependant, déficientes en certains acides aminés soufrés (Cystéine et méthionine). Les feuilles sont également une importante source de vitamine A et C et de sels minéraux (**OUEDRAOGO, 1978**).



**Photo 1.3**  
Graines de *V. unguiculata* (Originale)

Du point de vue agronomique, le niébé est une plante à cycle court (2 à 4 mois) et à exigences agro-culturelles réduites. Contrairement aux céréales, la culture du niébé est une culture biodynamique, il contribue à enrichir le sol en matière organique et en azote d'une quantité allant de 50 à 230 kg par hectare grâce aux résidus laissés sur les parcelles après la récolte des gousses (**STANTON, 1970**). Cette légumineuse joue par conséquent un rôle primordial dans les rotations et associations des cultures. Son système racinaire est également très profond assurant une bonne fixation et une bonne conservation des sols (**PASQUET et BAUDOIN, 1997**).

Après la récolte des gousses, les feuilles et les tiges, enroulées en bottes puis séchées, donnent la paille qui constitue un excellent fourrage pour le bétail pendant la saison sèche où les pâturages sont rares (**KEITA, 2000**).

### 1.1.5 Entomo-faune nuisible du niébé

De nombreuses espèces de ravageurs d'importance variable attaquent le niébé durant sa croissance, son développement et au cours du stockage (**Tableau 1.1**) parmi lesquels on note particulièrement:

- *Aphis craccivora* Koch: Puceron susceptible de transmettre des maladies virales (rosette).
- *Megalurothrips sjostedti* et *Sericothrips occidentalis*: Deux espèces de thrips les plus nuisibles au niébé.

- *Maruca testulatis* : Foreuse des gousses de niébé, c'est une pyrale inféodée aux légumineuses.
- *Amsacta moloneyi* DRC : Chenille poilue du niébé, ravageur des feuilles et des jeunes plantules.
- *Callosobruchus maculatus* : Bruche ravageur des stocks.

**Tableau 1.1** : Entomo-faune nuisible à la culture du niébé

| Nom scientifique et systématique           | Partie attaquée de la plante                |
|--|---|
| <b>Thysanoptera</b>                        |   |
| Thripidae                                  |   |
| <i>Megalurothrips sjostedti</i> (Tryb.)    | Fleurs                                      |
| <b>Hemiptera</b>                           |   |
| Coreidae                                   |   |
| <i>Clavigralla shadabi</i> (Dolling)       | Gousses vertes et graines                   |
| <i>Clavigralla tomentosicollis</i> (Sfal.) | Gousses vertes et graines                   |
| <b>Homoptera</b>                           |   |
| Aphididae                                  |   |
| <i>Aphis craccivora</i> (Koch)             | Feuilles, fleurs, gousses vertes et graines |
| Cicadellidae                               |   |
| <i>Empoasca dolichi</i> (Paoli)            | Feuilles                                    |
| <b>Coleoptera</b>                          |   |
| Bruchidae                                  |   |
| <i>Callosobruchus maculatus</i> (F.)       | Grains secs                                 |
| <i>Callosobruchus chinensis</i> (L.)       | Grains secs                                 |
| Chrysomelidae                              |   |
| <i>Cerotoma ruficornis</i> (Oliv.)         | Feuilles, fleurs, gousses vertes et grains  |
| <i>Madurasia obscurella</i> (Jacoby)       | Feuilles                                    |
| Curculionidae                              |   |
| <i>Chalcodermus bimaculatus</i> (Fielder)  | Gousses vertes et graines                   |
| <i>Piezotrachelus varius</i> (Wagner)      | Gousses vertes et graines                   |
| Meloidae                                   |   |
| <i>Mylabris spp.</i>                       | Fleurs                                      |
| <b>Lepidoptera</b>                         |   |
| Arctiidae                                  |   |
| <i>Amsacta sp</i>                          | Feuilles, plante entière                    |
| Pyralidae                                  |   |
| <i>Elasmopalpus lignosellus</i> (Zeller)   | Tige et pédoncules                          |
| <i>Maruca tesfulatis</i> (Geyer)           | Fleurs, gousses vertes et graines           |
| <b>Diptera</b>                             |   |
| Agromyzidae                                |   |
| <i>Ophiomyia phaseoli</i> (Tryon)          | Tige et pédoncules                          |

(NDIAYE, 1986; POLLET, 1995; YEHOUENOU, 1998; NYABYENDA, 2005; DUGJE *et al.*, 2009; KADRI *et al.*, 2013).

## 1.2- PRESENTATION DE L'INSECTE

### 1.2.1 Les coléoptères Bruchidae

L'ordre des Coléoptères constitue le plus grand groupe dans le règne animal. Il compte environ 200 familles qui sont groupées en 3 sous ordres, les Archostemates, les Adéphages et les Polyphages. C'est dans ce dernier sous ordre que se rencontrent les Bruchidae. Cette famille possède environ 1200 représentants connus et répartis dans toutes les régions du globe mais surtout abondants dans les zones tropicales (BALACHOWSKY, 1962; KINGSOLVER, 2004).

Les Bruchidae constituent un groupe homogène d'insectes cléthrotophages dont le développement se déroule en général à l'intérieur d'une même graine (DELOBEL et TRAN, 1993). Ils sont pour la plupart des petits coléoptères de couleur terne (à dominante brunâtre) caractérisés par une forme courte, ramassée globuleuse ou subparallélépipédique dont la taille oscille de 3,5 à 5mm. La tête est prolongée en avant en un museau élargi et muni de deux gros yeux réniformes (MALLAMAIRE, 1962). Les antennes non filiformes sont insérées près des yeux. Les pièces buccales sont de type broyeur avec des mandibules très développées. Les élytres recouverts d'une pilosité très fine recouvrent tous les tergites abdominaux à l'exception du dernier, le pygidium. Les ailes sont fonctionnelles chez presque toutes les espèces. Les pattes postérieures sont toujours plus développées que les deux autres paires avec des fémurs fréquemment dilatés ou renflés en massue (BALACHOWSKY, 1962).

Les plantes hôtes privilégiées des Bruchidae sont souvent les légumineuses comme le haricot et le pois-chiche. Ils peuvent s'attaquer à d'autres plantes sur lesquelles ils ne causent que de très faibles dégâts. DELOBEL et TRAN (1993) ont scindé les bruches en deux groupes:

- Le premier groupe comporte les espèces qui pondent dans les champs et développent une seule génération par année (espèces univoltines): c'est le cas de la bruche de la fève (*Bruchus rufimanus*) et la bruche de la lentille (*Bruchus lentis*).
- Le second groupe renferme les bruches qui vivent dans les stocks et possédant plusieurs générations annuelles (espèces polyvoltines): c'est le cas de la bruche du niébé (*C. maculatus*) et *Caryedon serratus* (bruche de l'arachide).

Dans le présent travail de thèse, il s'agit de *C. maculatus* ou la bruche du niébé qui cause des dégâts aussi bien sur la culture en fin de cycle (gousses mûres) que pendant le stockage.

## 1.2.2 La Bruche du niébé (*C. maculatus*)

### a) Position systématique et synonymie

*C. maculatus* est une espèce cosmopolite, originaire du continent Africain (SOUTHGATE, 1964 in DELACRUZ PEREZ *et al.*, 2013). C'est en 1775 que Fabricius a décrit pour la première fois la bruche du niébé sous le nom de *Bruchus maculatus*. Elle fût également inventoriée sous plusieurs noms: *Bruchus quadrimaculatus* (Fabricius, 1792), *Callosobruchus ornatus* (Boheman, 1829), *Pachymerus quadrimaculatus* (Fabricius, 1905), mais le nom scientifique préféré demeure *C. maculatus*. Cette dernière est communément appelée bruche à 4 tâches ou bruche maculée. Les anglo-saxons l'appellent cowpea weevil. Actuellement, la classification phylogénétique a tendance à classer les bruches dans la famille des Chrysomelidae (KERGOAT *et al.*, 2007). La position systématique de *C. maculatus* est la suivante:

|   |
|---|
| ✓ Regne : Animalia  |
| ✓ Phylum : Arthropoda                                       |
| ✓ Sous phylum : Hexapoda                                    |
| ✓ Classe: Insecta   |
| ✓ Ordre: Coleoptera   |
| ✓ Famille: Chrysomelidae                                    |
| ✓ Sous famille: Bruchinae                                   |
| ✓ Genre: <i>Callosobruchus</i>                              |
| ✓ Espèce: <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius, 1775) |

### b) Description et développement de *C. maculatus*

- *L'œuf* : Possède une forme ovoïde et présente deux extrémités: une extrémité subconique correspondant au pôle antérieur et l'autre extrémité est arrondie correspondant au pôle postérieur. C'est là où se trouve un tunnel, la voie par laquelle se font les échanges gazeux entre l'intérieur de l'œuf et le milieu extérieur (CREDLAND, 1992). Il mesure 0,4 à 0,7 mm de long sur 0,3 à 0,4 mm de large. De couleur blanc translucide après la ponte, il devient blanc laiteux après éclosion (Photo 1.4). Il adhère à la surface des gousses et des graines par un liquide adhésif qui se solidifie à l'air après la ponte et qui le retient même après éclosion (BALACHOWSKY, 1962). L'incubation de l'œuf dure environ une semaine

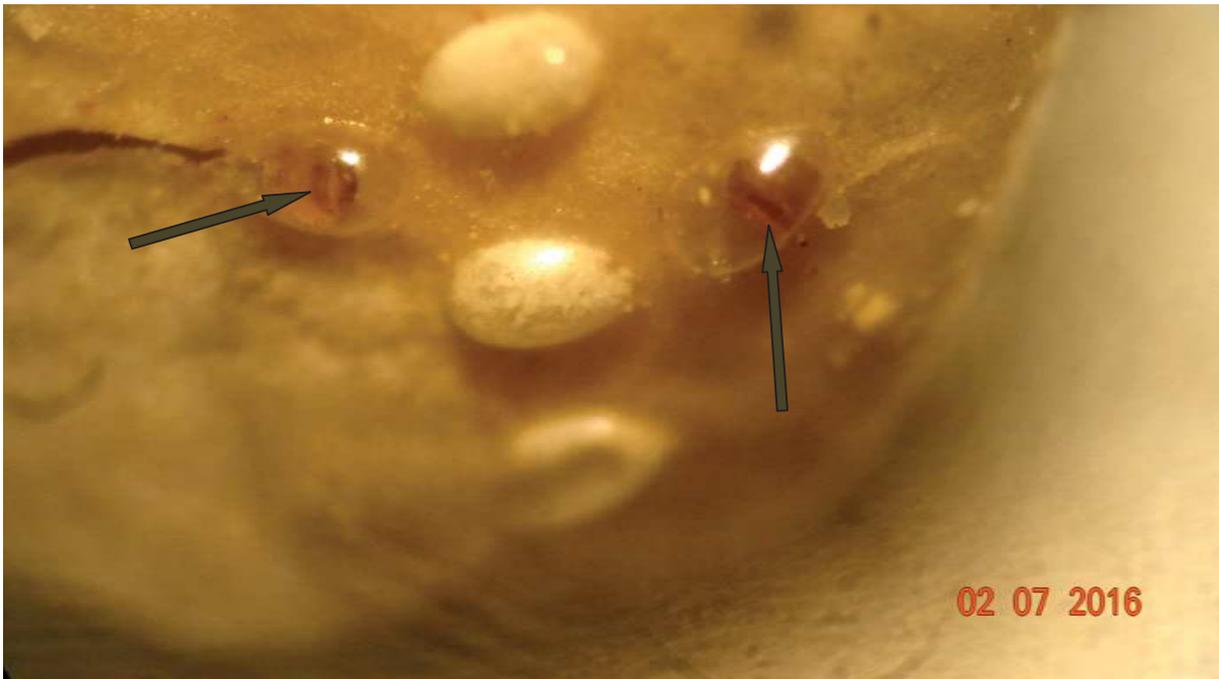
aboutissant à la formation de la larve néonate dans les conditions de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  et  $70 \pm 5\%$  d'humidité relative (KELLOUCHE, 2005). La dimension des œufs pondus par *C. maculatus* varie selon le substrat et influence la survie de la descendance. Les descendants issus de gros œufs éclosent rapidement et en plus grand nombre, ils ont un taux de survie larvaire élevé, les larves se transforment plus rapidement en nymphe, produisent des adultes grands et plus tolérants à la pénurie alimentaire et à la dessiccation. La femelle de *C. maculatus* peut anticiper la compétition larvaire future, due aux conditions de croissance, en produisant de gros œufs pour améliorer les chances de survie de la descendance. Lors de la ponte, une phéromone de marquage est déposée en même temps que l'œuf, elle permet à la femelle d'éviter les graines fortement infestées dans le but de réduire la compétition larvaire (DELOBEL et TRAN, 1993).



**Photo 1.4:** Les œufs de *C. maculatus* pondus sur la graine de niébé (Photo originale) (Grx10)

- Les stades larvaires: *C. maculatus* présente 4 stades larvaires et un stade nymphal:

- Larve du 1<sup>er</sup> stade, larve néonate (**L1**): c'est une larve de type chrysomélien au corps blanchâtre. Elle présente une plaque prothoracique et 3 paires de pattes fines non fonctionnelles. Elle apparaît constamment à l'endroit de dépôt de l'œuf à l'intérieur même de celui-ci (**Photo 1.5**). 24 à 48 heures après éclosion, elle pénètre dans la graine où elle se développe dans l'épaisseur du cotylédon.



**Photo 1.5** : Larve **L1** de *C. maculatus* sous le chorion de l'œuf (Photo originale) (Grx20)

- Larve du 2<sup>ème</sup> stade (**L2**): c'est une larve de type rhynchophorien à corps blanchâtre. La tête est marron-jaunâtre portant une paire d'antennes à 3 articles. Elle est dépourvue de plaque prothoracique et de pattes (**Photo 1.6**). Elle grandit et élargit la galerie en une logette où se déroulera la prochaine mue.



Photo 1.6 : Larve L2 de *C. maculatus* (Photo originale) (Grx80)

- Larve du 3<sup>ème</sup> stade (L3): elle est apode comme la L2 (Photo 1.7). Elle continue à agrandir la galerie en une 2<sup>ème</sup> logette où elle grossit énormément et mue.



Photo 1.7 : Larve L3 de *C. maculatus* (Photo originale) (Grx80)

- Larve du 4<sup>ème</sup> stade (**L4**): elle ne diffère de la **L2** et de la **L3** que par la taille (**Photo 1.8**). Elle poursuit son accroissement, grossit en creusant une 3<sup>ème</sup> logette où aura lieu la nymphose.



**Photo 1.8** : Larve **L4** de *C. maculatus* (Photo originale) (Grx10)

- *La nymphe*: elle est au départ blanchâtre et portant encore sur sa face ventrale l'exuvie de la larve du 4<sup>ème</sup> stade. Par la suite, ses organes se sclérifient progressivement pour donner l'imago (**Photo 1.9**). La nymphose a lieu dans la logette construite par la **L4** (la 3<sup>ème</sup> logette). Avant d'émerger, l'imago reste dans cette logette 24 à 48 heures.



Photo 1.9: Nymphes de *C. maculatus* (Photo originale) (Grx20)

Dans le **Tableau 1.2** sont représentées les différentes mensurations et la durée des différents états et stades larvaires.

**Tableau 1.2**  
Mensuration et durée des différents états et stades larvaires de *C. maculatus* (KELLOUCHE, 2005).

| États et stades larvaires       | Longueur (mm) | Largeur (mm) | Durée moyenne (jours) |
|---------------------------------|---------------|--------------|-----------------------|
| Embryogénèse                    | –             | –            | 7 ± 1                 |
| Larve du 1 <sup>er</sup> stade  | 0,54 ± 0,08   | 0,32 ± 0,05  | 2 ± 1                 |
| Larve du 2 <sup>ème</sup> stade | 0,68 ± 0,04   | 0,39 ± 0,03  | 2 ± 1                 |
| Larve du 3 <sup>ème</sup> stade | 1,12 ± 0,49   | 0,68 ± 0,17  | 6 ± 1                 |
| Larve du 4 <sup>ème</sup> stade | 3,76 ± 0,28   | 2,03 ± 0,26  | 5 ± 1                 |
| Nymphose                        | –             | –            | 6 ± 1                 |
| Durée totale en jours           | –             | –            | 28 ± 1                |

- *L'adulte*: au terme de la nymphose, l'adulte émerge de la graine pour commencer un nouveau cycle après avoir traversé la fenêtre de sortie préparée par la larve âgée. Il mesure 2,8 à 3,5 mm de long. Il est généralement de couleur noire et rousse avec tous les intermédiaires entre ces deux couleurs (**Photo 1.10**). *C. maculatus* présente un corps oblong caractéristique des Bruchidae qui est entièrement recouvert de soies blanches à jaunâtres (**OUEDRAOGO, 1991**). Les antennes sont crénelées à partir du 5<sup>ème</sup> article, les derniers articles sont parfois assombris. Ses élytres sont de couleur noire avec des zones rousses revêtues d'une pubescence blanche et dorée, dessinent souvent un X plus ou moins épais sur les deux élytres (**DELOBEL et TRAN, 1993**).



A) Femelle de *C. maculatus* (Photo originale)  
(Grx10)

B) Mâle de *C. maculatus* (Photo originale)  
(Grx10)

**Photo 1.10:** Adultes de *C. maculatus* (A) Femelle et (B) Mâle.

Les mâles sont en général de taille plus petite que les femelles. Mais la caractéristique la plus distinctive est la coloration de la plaque recouvrant le pygidium (dernier segment abdominal). Chez la femelle, la plaque est agrandie et de couleur sombre sur les deux cotés latéraux. Le mâle présente un pygidium réduit sans aucune coloration (**BECK et BLUMER, 2014**) (**Photo 1.11**). Ce dimorphisme est aussi représenté par l'élargissement des sept derniers articles antennaires chez le mâle ainsi que par le pygidium qui échancre le dernier anneau ventral alors qu'il reste entier chez la femelle (**BALACHOWSKY, 1962**).

Une autre caractéristique de *C. maculatus* est l'existence d'un polymorphisme, il ya en effet deux formes qui se distinguent tant par la coloration des élytres, leur aptitude au vol et leur fécondité (UTIDA, 1956 et 1972; in BECK et BLUMER, 2014). La première forme, inapte au vol, est appelée « non voilière » et ne se déplace que par la marche. Elle est observée durant toute la saison sèche, se maintient et se reproduit sur les gousses et les graines stockées le plus souvent du niébé où 6 à 7 générations se succèdent à l'intérieur du grenier. Les individus ayant cette forme ont un muscle alaire atrophié et par conséquent, ils sont incapables de voler (OUEDRAOGO, 1978). Ils sont rétrécis, leur abdomen n'étant pas totalement recouvert par les élytres. Leur longévité est faible (6 à 8 jours à 30°C) et leur fécondité moyenne est de 60 à 90 œufs par femelle (DELOBEL et TRAN, 1993).

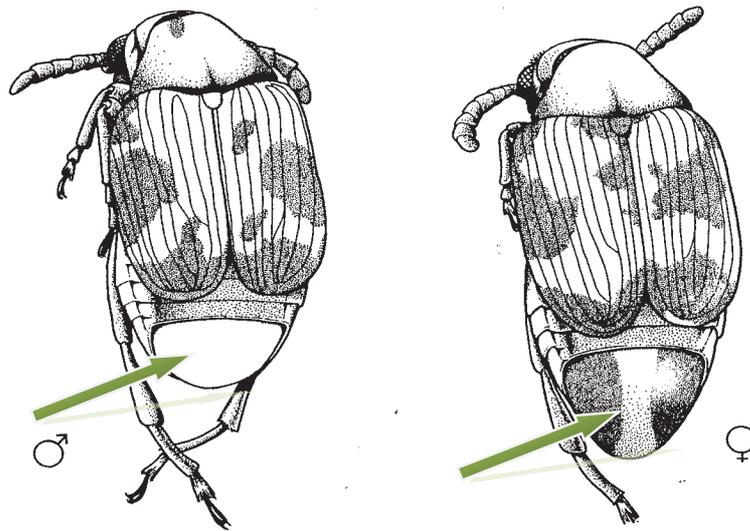


Photo 1.11

Les plaques abdominales postérieures (pygidium) chez le mâle et la femelle de *C. maculatus*

(BECK et BLUMER, 2014)

La seconde forme est apte au vol. Elle est appelée « bonne voilière » ou « active » apparaissant à l'approche de la saison des pluies lorsque la teneur en eau de l'atmosphère et des graines augmentent. C'est la forme de dissémination. Les individus de cette forme sont très actifs et trapus et la densité de la pilosité de leur corps est importante et leur confère un aspect plus clair. De plus, ils sont caractérisés par une faible fécondité et une longévité d'environ un mois à 30°C. OUEDRAOGO (1978) signale que la teneur en eau des graines, la température, l'humidité relative

influencent l'apparition de cette forme en élevage de masse. En effet, une forte proportion d'adultes voiliers émergent des graines de niébé lorsque la température est de 30,2°C, l'humidité relative de 80% et la teneur en eau des graines allant de 13 à 15%. A basse température, il ya toujours émergence d'adultes de la forme non voilière, quelque soit la teneur en eau des graines (OUEDRAOGO *et al.*, 1991).

Pendant la phase adulte, *C. maculatus* ne s'alimente pas du tout au niveau des stocks à graines. Cependant, dans les champs, elle se nourrit très peu, de pollen, ce qui expliquerait sa plus grande longévité comparativement à celle vivant dans les stocks. L'accouplement et la ponte ont lieu aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière, ils peuvent se succéder dans les deux heures suivant leur émergence. La femelle est très active pendant la période des pontes. Au champ, elle pond ses œufs sur les gousses dès que celles-ci commencent à jaunir (sur les gousses vertes, la mortalité larvaire est très élevée) (LEPESME, 1944). Dans les magasins, elle dépose ses œufs sur toutes les faces des graines pour peu qu'elles soient lisses.

### 1.2.3 Dégâts causés par *C. maculatus*

Les insectes de la famille des Bruchidae constituent sans aucun doute une des contraintes majeures au développement des cultures de légumineuses à graines.

De nombreuses études réalisées dans plusieurs pays africains ont montré que pendant l'entreposage du niébé, le taux d'infestation initial par les bruches est généralement inférieur à 5% (OUEDRAOGO, 1991; SANON *et al.*, 2005). Ce taux passe à 30% après 1 mois, puis 80 à 100% en l'espace de 5 à 6 mois de stockage (GLITHO, 1990; OUEDRAOGO *et al.*, 1996 et TAPONDJOU *et al.*, 2002). L'ampleur des dégâts occasionnés par *C. maculatus* est fonction du niveau d'infestation initiale, de la durée et des techniques de stockage.

Les dégâts causés par *C. maculatus* sont dus exclusivement aux larves qui dévorent les réserves du cotylédon des graines (Photo1.12). Les signes d'infestation sont les trous de sortie des insectes ayant un diamètre de 2,5 mm (KELLOUCHE, 2005). La bruche du niébé cause non seulement une réduction directe du poids sec, mais également une diminution de la viabilité des semences et de la qualité marchande et nutritionnelle des graines, suite au développement de moisissures qui les rendent impropres à la consommation humaine (BISCHOFF, 1992; in KELLOUCHE, 2005). Les graines infestées sont contaminées par les déchets déposés par les insectes et une teneur en poussière accrue. En outre, au cours de leur développement, les larves de bruches éliminent l'azote sous forme d'acide urique toxique qui s'accumule à l'intérieur des graines (NDOUTOUME-NDONG et ROJAS-ROUSSE, 2007). Les graines percées sont souvent décolorées et dégagent une odeur déplaisante. L'effet combiné des différents dégâts peut occasionner une perte totale de la production. *C.*

*maculatus* constitue donc un frein majeur à la consommation et au développement de la production du niébé. Afin de protéger et de conserver ces graines, une approche de lutte intégrant plusieurs méthodes tant traditionnelles que modernes est donc plus qu'indispensable.



Photo 1.12 : Les dégâts causés par *C. maculatus* (Photo originale)

#### 1.2.4 Moyens de lutte

Pour réussir une protection efficace des denrées en cultures et au cours du stockage, différentes méthodes de lutte ont été mises au point:

##### *a) Méthodes traditionnelles*

Elles consistent en:

- Un ramassage des graines à un stade phénologique précoce, une récolte régulière des gousses dès leur maturité, et une association du niébé avec l'arachide ou une céréale. Un séchage préalable au stockage devient nécessaire avec un taux d'humidité des graines de l'ordre de 13%.
- Un tri de la récolte avant le stockage. Le paysan choisit les gousses ou graines indemnes pour réduire l'infestation initiale.

- Un nettoyage, soigneusement entrepris, des locaux de stockage, des sacs en jute, et de tous les moyens utilisés pour le transport ou la manutention des graines.
- Un usage de la fumée ou d'un séchage au soleil. La fumée et la chaleur s'avèrent en renfermer une action physique quelque peu répulsive voire même insecticide.
- Un stockage hermétique: ce type de stockage est de plus en plus pratiqué en milieu rural. Il consiste à entreposer les graines dans des récipients hermétiques à l'air. Ce qui prévient toute intrusion des ravageurs des stocks, mieux encore cette opération éliminerait tous les insectes qui y subsisteraient par asphyxie (**SECK et GASPARD, 1992**). Un stockage dans des récipients en argile séchée ou dans des fûts métalliques qui doivent être remplis au maximum de manière à limiter le volume d'oxygène dans ces enceintes. Un stockage hermétique des graines dans des sacs en plastique. Il faut cependant utiliser un matériau suffisamment résistant aux déchirures. Les sacs en polypropylène ayant une doublure en coton ont donné des résultats satisfaisants (**CASWELL et VANHUIS, 1991** in **LIENARD et SECK, 1994**).

*L'institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD) au Cameroun a entrepris des travaux de recherche sur la technologie du triple ensachage dans les années 80. Actuellement, cette technologie est très répandue dans tous les pays de l'Afrique de l'Ouest. Elle a permis d'accroître non seulement la productivité des paysans, mais elle a également assuré une sécurité alimentaire et a réduit la pauvreté. Elle a surtout offert une garantie sanitaire du produit car cette technique est totalement dépourvue de produits chimiques.*

*L'application de cette méthode nécessite toutefois quelques précautions :*

- *S'assurer que les graines à stocker soient bien sèches et propres.*
- *Enlever tous les débris de toute nature qui puissent percer le sachet.*
- *Garder les sacs bien fermés dans des endroits sûrs et secs et surtout hors de portée des rongeurs.*

**(FOLEFACK et al., 2013)**

- Un ajout de substances minérales: un mélange aux graines de substances minérales pulvérulentes (cendres, chaux, sable, silice, ...) peut les préserver d'infestation par les insectes. C'est un procédé très ancien et universel. Ces substances pulvérulentes ont pour effet de rayer la cuticule et de blesser les articulations qui gêneraient les déplacements et la respiration des insectes (**KOSSOU et AHO, 1993** et **LIENARD et SECK, 1994**) rapportent que la cendre constitue une barrière physique qui empêcherait l'entrée des adultes dans la graine des stocks, diminuerait leur oviposition et réduirait leurs émergences. Le kaolin mélangé aux graines provoque également la déshydratation de nombreux insectes dont *C. maculatus*. **KORUNIC et al. (1996)** in **GUEYE et al.**

(2011), notent que les terres de diatomées ont un effet abrasif et une absorption des lipides cuticulaires entraînant la mort de l'insecte par dessiccation.

### ***b) Produits chimiques***

Pour combattre les insectes ravageurs des cultures et des stocks de récoltes, les paysans recourent souvent à la lutte chimique, qui représente pour eux la méthode de protection la plus efficace pour sauvegarder leurs productions. Au-delà du fait qu'elle soit onéreuse, cette méthode présente et génère de nombreux inconvénients à court et à long terme (SECK *et al.*, 1991 et GUEYE *et al.*, 2011). Elle exige une utilisation à bon escient avec raison et discernement et un savoir faire par un personnel qualifié. Un mauvais usage de ces produits de synthèse conduit à la fois à de graves conséquences sanitaires pour l'utilisateur, le consommateur et aussi à la pollution de l'environnement et des désordres écologiques (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2002; NGAMO et HANCE, 2007; TOUMNOU *et al.*, 2012; ADJALIAN *et al.*, 2014; KAYOMBO *et al.*, 2014).

Entre temps, l'usage intensif et répété des produits chimiques non appropriés a provoqué l'apparition du phénomène de résistance chez de nombreux ravageurs (KUMAR, 1991). En agriculture, tout comme d'ailleurs en santé publique ou autre, l'utilisation croissante des insecticides, au cours des 40 dernières années, a eu pour conséquence une augmentation régulière du nombre d'espèces résistantes. Ce phénomène de résistance, outre de compromettre l'efficacité des mesures de lutte, peut avoir des séquelles préoccupantes sur les plans économiques et sanitaires, mais également écologiques, par l'accroissement des doses d'insecticides utilisées. BELL et WILSON (1995) et BENHALIMA *et al.* (2004), pour ne citer que ces deux exemples, rapportent que des souches de *Trogoderma granarium* (Everts) (Dermestidae) provenant du Burkina Faso et des populations de *Sitophilus zeamais* (Motsch) (Curculionidae) du Maroc développent un fort degré de tolérance à la phosphine, fumigant réputé efficace et ne dégageant aucun résidu.

Les insecticides utilisés, très souvent, affectent également les populations d'ennemis naturels qui sont des organismes utiles. Des études approfondies effectuées sur l'influence des insecticides sur les ennemis naturels des ravageurs démontrent clairement que ces derniers perturbent sérieusement la relation ravageurs-ennemis naturels, dont la conséquence est non seulement la résurgence du ravageur, mais encore plus sa pullulation (KUMAR, 1991 et ILBOUDO, 2009).

Deux principaux genres de produits chimiques sont utilisés pour la conservation des stocks de graines de niébé, il s'agit des insecticides de contact et des fumigants:

- *Les insecticides de contact*: On distingue plusieurs familles:

- Les organochlorés: Le **DDT** et le lindane qui sont très efficaces contre *C. maculatus*. Ils sont très toxiques pour l'homme. Ces produits sont aujourd'hui écartés de la liste des produits chimiques admis pour la lutte contre les insectes (**PIERRARD, 1984**).
- Les organophosphates: nous pouvons citer le malathion, le pirimiphos - méthyl, le chlorpyrifos – méthyl et le dichlorvos. Le pirimiphos - méthyl s'est révélé être le plus efficace (**LIENARD et SECK, 1994**).
- Les carbamates: le Carbaryl est de loin le plus employé contre *C. maculatus*.
- Les pyréthrinoïdes de synthèse: le plus intéressant est la deltaméthrine. Elle permet une protection efficace du niébé pendant 6 à 7 mois de stockage (**SECK et al., 1991**).
- Les **IGRs** (Insect Growth Regulators) comme le diflubenzuron qui est efficace sur plusieurs espèces d'insectes, il cause des troubles de développement et empêche la mue imaginale (**KUMAR, 1991**).

Ces insecticides de contact ont malheureusement très peu d'action sur les formes larvaires cachées résultant d'une primo-infestation souvent importante.

- *Les fumigants:*

Ce sont des insecticides sous forme gazeuse, utilisés par vaporisation. Ils permettent de faire un traitement carrément curatif en éliminant les formes dissimulées du ravageur. Dans les pays chauds, la phosphine (PH<sub>3</sub>) est le fumigant le plus régulièrement utilisé et s'avère très opérant contre les œufs et les larves de *C. maculatus* (**SINGH et al., 1990; in LIENARD et SECK, 1994**). Les fumigants sont généralement très dangereux pour l'homme et les animaux, leur application nécessite des normes de sécurité très strictes. Certains de ces fumigants comme le bromure de méthyle, ont fait l'objet d'une interdiction aux Etats-Unis, depuis 2005, en raison de leur nuisance sur la couche d'ozone (**PIZANO, 2014**).

Compte tenu des effets néfastes de l'utilisation des produits de synthèse sur la santé humaine surtout et de l'inefficacité de la plupart des méthodes traditionnelles, d'autres voies de protection des récoltes doivent être exploitées. Des voies qui doivent être non seulement moins onéreuses mais surtout plus rassurantes sur la santé humaine et sur l'environnement. Parmi ces nouvelles alternatives figurent la mise au point de la résistance variétale, de la lutte biologique et de la phytothérapie.

### c) *Résistance variétale*

En agriculture, un des grands fondements de la protection des plantes est la prévention: il faut éviter autant que possible que la plante ne soit touchée par la maladie ou le ravageur et lorsque ces derniers sont présents, il est plus judicieux de limiter au maximum leur impact sur la culture. Pour ce faire, plusieurs actions sont possibles : choisir des variétés moins sensibles à ces fléaux, assurer un espace favorable au développement de la culture et défavorable à la prolifération de ces ennemis, fournir à la plante une nourriture convenable... Mais le premier levier à assigner pour lutter contre les ravageurs des cultures reste inévitablement le choix des variétés.

Dans la pratique, la résistance représente la capacité d'une certaine variété à produire une récolte importante et de bonne qualité qui pourraient donner d'autres variétés si celles-ci étaient soumises, dans les mêmes conditions, à une même population d'insectes (**FOWDEN et JENNINGS, 1980**). La notion de résistance recouvre également d'autres concepts. Toutefois, les concepts les plus appropriés aux insectes demeurent l'antibiose (ou la non préférence) et la tolérance. Le concept antibiose représente tous les procédés utilisés par certains organismes pour affecter de près ou de loin le développement d'autres individus et ce pour assurer leur propre survie. C'est une notion complètement opposée à la symbiose. Quant au concept de la tolérance, il repose sur le principe de la sélection génétique qui s'oriente vers des variétés ayant une tolérance admissible ou exigée vis à vis des agressions des milieux où elles seront appelées à évoluer.

Dès les années 70 et ce jusqu'à présent, le déficit majeur de l'Institut International d'Agriculture Tropicale (**IIAT**) basé au Nigéria est de sélectionner des variétés plus résistantes aux nombreux ravageurs des gousses et des graines (Chenille foreuse, Punaise des gousses, Bruches, ...). Selon **PASQUET et BAUDOIN (1997)**, cet objectif ne serait mandé qu'en prospectant et en analysant les réservoirs génétiques et les espèces apparentées. A ce titre, **DOUMMA et al. (2006)** ont rapporté que certaines variétés, telles que 078-84, 041-84 et 034-84, présentent une résistance significative à *C. maculatus* et *Bruchidius atrolineatus* avec un niveau d'infestation très faible aussi bien en culture qu'en stockage.

### d) *Lutte biologique*

La lutte biologique ou « biological control » est l'utilisation et la gestion par l'homme d'ennemis naturels tels que les prédateurs, les parasitoïdes ou des agents pathogènes pour contrôler les populations d'espèces nuisibles et les maintenir à des seuils de nuisibilité acceptables et admissibles. Quand l'ennemi utilisé est un insecte, il s'agit d'une lutte à l'aide d'entomophages qui peuvent être des prédateurs ou des

parasitoïdes. Par contre, si l'ennemi est un microorganisme, il s'agit d'une lutte microbiologique. En effet, des micro-organismes entomopathogènes: bactéries, champignons, nématodes, protozoaires et virus sont également introduits dans la lutte biologique (DAJOZ, 1982). *Bacillus thuringiensis* est l'espèce bactérienne la plus largement utilisée pour la lutte biologique, avec au moins quatre sous-espèces utilisées pour contrôler les insectes nuisibles tels que les coléoptères, les lépidoptères, et les diptères.

La lutte biologique a été particulièrement étudiée en Afrique dans le cas de la bruche du niébé (KETOH *et al.*, 2002). Les résultats des recherches effectuées ont prouvé qu'un cortège parasitaire constitué d'hyménoptères parasitoïdes oophages et nympho-larvophage était associé aux bruches dans les cultures et dans les stocks. Des espèces d'entomophages ont été recensées où sont citées: une espèce oophage, *Uscana lariophagus* Stephan (Trichogrammatidae) et d'autres espèces larvo-nymphales comme *Dinarmus basalis* Rondoni (Pteromalidae), *Eupelmus vuilleti* Crawford et *Eupelmus orientalis* Crawford (Eupelmidae) (NDOUTOUME-NDONG et ROJAS-ROUSSE, 2007). Lorsque *D. basalis*, ectoparasitoïde solitaire des larves de *C. maculatus*, est introduit seul dans les greniers, il peut parasiter 90% des larves présentes dans les stocks (ALZOUMA, 1995). L'étude de l'activité reproductrice de *C. maculatus* sur 10 variétés de niébé a révélé qu'en présence de *D. basalis*, le taux d'émergence de la bruche est inférieur à 35% quelque soit la variété considérée (DOUMMA *et al.*, 2011).

Néanmoins, toute opération de parasitisme ne garantit en rien le maintien des dégâts imputables aux bruches au dessous d'un seuil économiquement acceptable (OUEDRAOGO *et al.*, 1996; MONDEDJI *et al.*, 2002). L'explication réside dans l'existence de compétitions interspécifiques entre parasitoïdes dont l'activité dépend de la niche écologique qui peuvent conduire à des périodes plus ou moins longues avant l'élimination d'une ou plusieurs espèces. D'autres inconvénients restent liés à l'utilisation de la lutte biologique, en particulier la pollution du lot infesté par les corps des larves hôtes parasitées et ceux des parasites.

#### e) *Phytothérapie*

La phytothérapie est la thérapeutique utilisant les plantes médicinales ou les formes immédiatement dérivées des plantes et qui sont réputées depuis l'antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques.

Depuis quelques décennies, l'homme s'est intéressé également à leurs activités biologiques, en particulier de leurs composés secondaires considérés comme étant des substances pouvant être utilisées contre les pathogènes et les ravageurs. Les agriculteurs avaient d'ailleurs coutume de mettre dans les sacs de grains des plantes

odorantes comme la menthe, l’ail, le laurier, etc... pour protéger leurs stocks contre les insectes. Ces végétaux possèdent une action insecticide ou répulsive via des composés volatiles qu’ils émettent. L’utilisation de ces substances végétales en tant que biopesticides dans la protection des graines de légumineuses a été pratiquée sous plusieurs formes: poudres de plantes, extraits aqueux, huiles essentielles et huiles végétales.

- *Les poudres des plantes:* Un nombre important de plantes aromatiques et médicinales a été testé sous forme de poudre et elles ont montré une action anti appétante ou répulsive vis-à-vis de plusieurs insectes ravageurs des denrées stockées. Ces poudres peuvent provenir de différents organes (feuilles, écorces, graines, fruits, etc...) de plantes séchées (**GWINNER et al., 1996; SULEIMAN et YUSUF, 2011**). Quelques exemples de poudres d’origine végétale utilisées contre les ravageurs des denrées stockées sont répertoriés dans le **Tableau 1.3**, ci-dessous.

**Tableau 1.3**  
Quelques poudres utilisées dans la lutte contre les ravageurs des denrées stockées

| Poudre   | Action  | Auteurs  |
|--|---|--|
| Poudre de feuilles de <i>Boscia senegalensis</i>   | Inhibition du développement des bruches dans les stocks   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>DOUMMA et ALZOUMA (2001)</b></li> <li>• <b>TOUFIQUE et al. (2014)</b></li> </ul> |
| Poudre des feuilles de Myrthe ( <i>Myrtus communis</i> )<br>Boutons floraux séchés (clous de girofle) ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) | Action insecticide sur la survie, la fécondité et la descendance de <i>C. maculatus</i>                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>KELLOUCHE et SOLTANI (2004)</b></li> </ul>                                       |
| Poudre d’écorce d’ <i>Afrostryrax lepidophyllus</i> et de <i>Trichilia gilgiana</i>  | Effet insecticide sur la mortalité et le nombre d’insectes émergés de <i>Sitophilus zeamais</i> et <i>Tribolium castaneum</i> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>TOUMNOU et al. (2012)</b></li> </ul>   |
| Poudre des feuilles de <i>Tephrosia vogelii</i>  | Effet insecticide, inhibition du développement des coléoptères des graines stockées pendant 5 mois.                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>KAYOMBO et al. (2015)</b></li> </ul>   |
| Poudre des fruits de piment  | Protection des doliques écosés  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>DE GROOT (2004)</b></li> </ul>   |

- *Les extraits aqueux:* C’est une méthode de conservation couramment utilisée par les fermiers africains qui réalisent un trempage des feuilles de plantes dans l’eau pour obtenir une solution à effet insecticide (**GAKURU et FOUABI, 1996**). Selon **REGNAULT-ROGER et HAMRAOUI (1997)**, les plantes les plus efficaces appartiennent à la famille des Lamiaceae. Les principaux extraits aqueux d’origine

végétale utilisés contre les ravageurs des grains stockés sont: les extraits de pyrèthre (Asteraceae), de neem (Melicaceae), de poivron (Solanaceae) et les racines d'Annona (Annonaceae) (GWINNER *et al.*, 1996).

- *Les huiles essentielles*: L'huile essentielle, appelée aussi essence, est l'âme de la plante d'où elle est extraite. C'est une substance odorante, volatile, inflammable, incolore ou jaunâtre ou même verdâtre, sa densité est généralement plus faible que celle de l'eau. Elle est très peu soluble dans l'eau, plus ou moins soluble dans l'alcool et dans l'éther (PADRINI et LUCHERONI, 1997). Elles sont extraites des liquides aromatiques non huileux. Elles constituent un mélange très complexe de monoterpénoïdes, de sesquiterpénoïdes et de phénols bio-génétiquement connexes qui confèrent aux plantes un arôme et une saveur uniques (ISMAN, 2000).

Ces huiles dérivent des espèces végétales très variées, extraites grâce à des procédés physiques à partir d'écorces de plantes, de fruits et même de leurs peaux, de racines, de tubercules, de branches, de feuilles et de fleurs. Leur préparation s'accomplit généralement par distillation à la vapeur d'eau, par pression ou par séparation avec des solvants (HERZI, 2013).

Les huiles essentielles sont connues depuis fort longtemps pour leurs vertus médicinales (antiseptique et antifongique). Peu à peu, elles ont constitué un remarquable outil de défense contre les insectes nuisibles en général et ceux des denrées stockées en particulier (KEITA *et al.*, 2001). Les plantes insecticides, à travers notamment leur huile essentielle, peuvent limiter la dépendance des paysans aux insecticides chimiques de synthèse. L'analyse chromatographique de quelques huiles essentielles révèle qu'elles renferment majoritairement des monoterpènes hydrocarbonés, composés volatiles qui leur allouent des propriétés insecticides. La toxicité de nombreuses huiles essentielles et de leurs constituants a été appréciée sur de nombreux ravageurs des graines. Ainsi, les huiles essentielles de *Laurus nobilis* (Lauraceae), d'*Origanum glandulosum* (Lamiaceae), de *Clausena anisata* (Rutaceae), de *Salvia verbenaca* (Lamiaceae), d'*Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) ont montré une activité insecticide à l'égard de *Rhyzopertha dominica*, de *Tribolium castaneum*, de *Bruchus rufimanus*, de *Callosobruchus chinensis* et de *C. maculatus* (NDOMO et NGAMO, 2008; KELLOUCHE *et al.*, 2010; MEDIOUNI-BENJEMAA *et al.*, 2012; RIGHI *et al.*, 2014).

- *Les huiles végétales*: Les huiles végétales sont utilisées très tôt dans la lutte contre les insectes sous forme d'émulsion. Ce sont à la fois des insecticides de contact qui agissent par leurs propriétés physiques et chimiques et des adjuvants pour leurs molécules liposolubles et synergistes dans certains cas (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2002). Les huiles végétales sont des esters d'acide gras à poids moléculaire élevé,

visqueuses, peu volatiles et insolubles dans l'eau. Elles sont obtenues, après lavage et broyage des graines ou des fruits, par des procédés mécaniques, mettant en jeu de très forte pression et éventuellement une augmentation de la température, ou par des procédés chimiques. La plupart de ces huiles sont liquides (olive, arachide, colza, tournesol). D'autres sont semi liquides (palme), enfin l'huile de noix de coco est carrément à l'état solide à température ambiante.

Seules les huiles non siccatives (qui ne subissent pas un séchage rapide à l'air) peuvent être utilisées comme insecticides pour protéger les denrées stockées. Dans ce cadre, les huiles d'arachide, de carthame, de moutarde, de ricin, de soja, de neem, d'olive et bien d'autres ont été testées et utilisées avec succès contre certains ravageurs. Leur application peut être préventive ou curative **(DEGROOT, 2004)**.

# **CHAPITRE 2**

## **PROTOCOLE EXPERIMENTAL**

---

## PROTOCOLE EXPERIMENTAL

---

### 2.1- INTRODUCTION

Le protocole expérimental est scindé en trois parties:

Dans la première partie du programme expérimental de cette thèse, il sera question de vérifier les propriétés phytoprotectrices de l'huile d'olive locale à l'égard de *C. maculatus*, vertus qui lui sont d'ailleurs attribuées depuis fort longtemps. Pour se faire, la mesure de l'activité biocide du traitement à base d'huile d'olive contre *C. maculatus* a été réalisée en évaluant les paramètres biologiques suivants :

- *Longévité des adultes*
- *Fécondité des femelles*
- *Eclosion des œufs (viabilité embryonnaire)*
- *Emergence des bruches adultes (viabilité post-embryonnaire)*

Les mêmes tests seront effectués sur la bruche à l'aide de chacun des quatre acides gras majeurs de l'huile d'olive, à savoir: l'acide oléique, l'acide linoléique, l'acide stéarique et l'acide palmitique. La variable dose a été introduite dans chaque traitement. Une fois que les premiers signes d'effets insecticides soient établis et appréciés sur un ou plusieurs traitements donnés, des essais complémentaires sur l'effet des produits retenus sur des graines préalablement infestées seront entrepris. Ainsi des essais insecticides sont réalisés afin d'évaluer la sensibilité des stades

larvaires cachés de *C. maculatus*, la barrière tégumentaire des graines pouvant jouer un rôle protecteur.

Dans la seconde partie, la faculté germinative, les pertes en poids et la valeur nutritive des graines traitées sont mesurées pour évaluer les effets secondaires des traitements. Les résultats de ces tests seront exploités pour préserver ces qualités très liées à la notion de sécurité alimentaire.

Comme les graines sont appelées à être conservées et protégées pour des périodes plus ou moins longues, des essais sur la rémanence de chacun des produits retenus comme étant potentiellement insecticides apporteront des indications sur les fréquences des traitements à entreprendre. Ces tests de rémanence, des traitements retenus, constituent l'essentiel de la troisième partie du programme expérimental.

Cet ensemble d'informations constitue une base de données qui permettrait de mesurer le potentiel insecticide de l'huile d'olive et de certains de ses constituants majeurs. Les produits retenus pourraient être proposés comme substances phytosanitaires alternatives pour limiter les dégâts occasionnés par les insectes ravageurs des grains stockés, en particulier la bruche du niébé.

## **2.2- MATERIEL UTILISE**

### **2.2.1 Le Substrat utilisé, le niébé**

Les graines de *V. unguiculata* utilisées comme support pour les essais biologiques ont été achetées au marché local. Elles ont été triées pour éliminer celles qui sont infestées, facilement reconnaissables par la présence des pontes sur les téguments.

### **2.2.2 La bruche du niébé**

La souche de *C. maculatus* avec laquelle ont été réalisés les différents tests provient d'une récolte de gousses sèches de *V. unguiculata*, variété « haricot kabyle », d'une culture menée dans la région de Tizi-Ouzou.

L'élevage de masse de *C. maculatus* a été réalisé au Laboratoire d'Entomologie Appliquée (LEA) de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), en mettant en contact des femelles et des mâles d'âge indéterminé dans des bocaux en verre (1litre) contenant des graines de niébé. Les œufs sont déposés sur le tégument des graines à l'intérieur desquelles tout le développement post-embryonnaire a eu lieu. L'élevage est entretenu dans une étuve obscure maintenue à une température de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  et une humidité relative de  $70 \pm 5\%$ . Toutes les expériences effectuées se sont déroulées dans les mêmes conditions. Les insectes émergents, âgés de moins de 24

heures, ont été à chaque fois utilisés pour les tests biologiques. Il est important de préciser que la souche d'origine des bruches est renouvelée chaque année pour éviter l'usure génétique qui s'observe dès la vingtième génération.



**Figure 2.1:** Elevage de masse de *C. maculatus*  
(Laboratoire d'Entomologie Appliquée, UMMTO)

### 2.2.3 L'huile d'olive

#### a) *Rappels*

L'huile d'olive est la matière grasse extraite des fruits de l'olivier (*Olea europaea*) lors de la trituration dans un moulin à huile. C'est le mésocarpe charnu du fruit qui fournit l'huile (15 à 35% de son poids) suivant les variétés. L'huile d'olive se décline en différentes qualités. Selon son procédé de fabrication et de manipulation, sa qualité est basée sur trois critères majeurs: l'acidité, l'indice de peroxyde et l'intensité organoleptique. Cependant, l'acidité apparaît comme un moyen simple et fiable pour évaluer la qualité du fruit avant la trituration, plus cette acidité est faible plus l'huile est de bonne qualité. Les producteurs d'huile d'olive se sont accommodés avec ce critère pour contrôler la qualité de leurs produits car le test est peu coûteux et peut être mis œuvre facilement (PINATEL *et al.*, 2004; in BENRACHOU, 2013).

Le Conseil Oléicole International (COI, 2011) a d'ailleurs clairement défini les différents types d'huiles d'olive (vierge, raffinée, grignon) en se basant particulièrement sur l'acidité. Les différents types d'huiles d'olive sont présentés en **Annexe I**.

### ***b) Les constituants chimiques de l'huile d'olive***

L'huile d'olive est composée d'environ 99 % de lipides. Le 1 % restant constitue les composés mineurs ; il s'agit essentiellement : du squalène, des alcools triterpéniques, des stérols, des phénols et des dérivés du tocophérol. La matière grasse de l'huile d'olive est constituée de triglycérides. Ceux-ci sont composés d'acides gras de différentes sortes, dont la répartition est caractéristique de l'huile d'olive, et à un niveau de détail plus poussé, des différentes variétés, du lieu de production, de l'altitude ou de l'année de récolte (conditions environnementales) (**DAOUDI et CHERIF, 1981**). Les techniques telles que la chromatographie en phase gazeuse (**CPG**) ou la chromatographie liquide à haute performance (**CLHP**) permettent d'identifier les différents composants chimiques avec leur teneur.

Les limites de variabilité de la teneur des acides gras de l'huile d'olive exprimée en % des acides gras totaux sont fixées par les normes du **COI**, en référence au Codex Alimentarius, et présentées en **Annexe II**.

L'huile utilisée dans ce programme expérimental a été extraite des olives d'*O. europaea*, variété dénommée "Chemlal", dans une huilerie, à trois phases, moderne locale dans la région de Tizi-Ouzou (Algérie). Elle est classée comme étant une huile vierge courante.

#### **2.2.4 Composition chimique**

Un acide gras est constitué d'une chaîne d'atomes de carbone plus ou moins longue (entre 12 et 24 pour les huiles), sur laquelle se fixent des atomes d'hydrogène. Chaque atome de carbone est susceptible de nouer quatre liaisons, tandis que chaque atome d'hydrogène ne peut en établir qu'une. Cette chaîne carbonée peut être dépourvue de toute double liaison carbone-carbone (**C-C**), dans ce cas les acides gras sont dits saturés (**AGS**). Elle peut également contenir une double liaison (Acides Gras Mono-Insaturés, **AGMI**) ou plusieurs doubles liaisons (Acides Gras Poly- Insaturés, **AGPI**).

##### ***a) Acide oléique***

L'acide oléique est le plus abondant des acides gras à chaîne longue. Il est symbolisé par les nombres 18:1 pour indiquer qu'il a 18 carbones et une liaison double, éthylénique. Pour indiquer la position de la double liaison, il est préférable d'indiquer le nombre de carbones entre le dernier carbone (n° 18) et le carbone où commence la double liaison (n° 9), d'où 18 - 9, qu'on écrit n - 9, en désignant par n le nombre de carbones de la chaîne. L'acide oléique est donc un acide gras insaturé, plus précisément mono-insaturé. Son nom vient de l'huile d'olive, mais il est abondant dans toutes les huiles animales ou végétales.

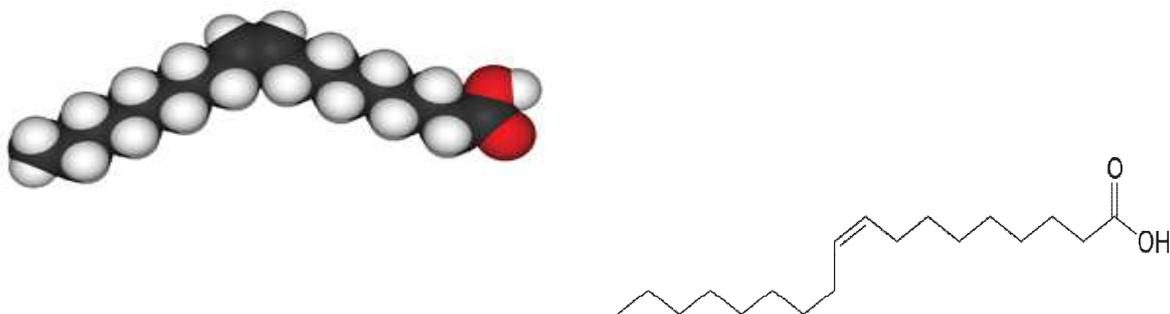


Figure 2.2: Structure de l'acide oléique (RAISONNIER, 2010)

### b) Acide linoléique

L'acide linoléique est un acide gras à chaîne longue qu'on trouve dans les huiles végétales. Il est symbolisé par les nombres 18:2 (n-6, n-9) pour indiquer qu'il a 18 carbones et deux liaisons éthyléniques situées sur les carbones n° 9 pour (n-9) et sur les carbones n° 12 pour (n-6): c'est un acide gras insaturé, et même polyinsaturé.

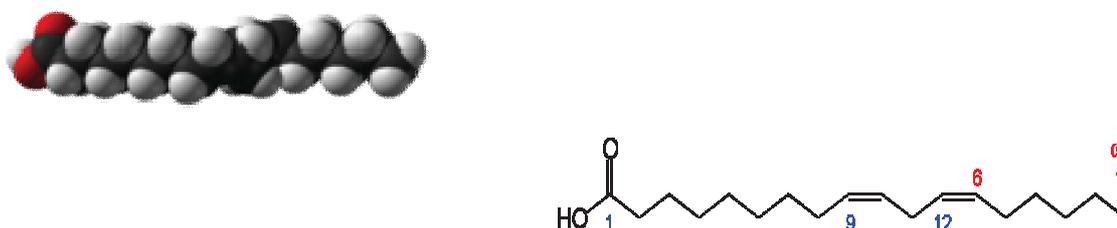


Figure 2.3: Structure de l'acide linoléique (RAISONNIER, 2010)

### c) Acide palmitique

L'acide palmitique constitue l'un des acides gras saturés les plus courants chez les animaux et les plantes. On le symbolise souvent par les nombres 16:0 pour indiquer qu'il a 16 carbones et aucune liaison éthylénique.

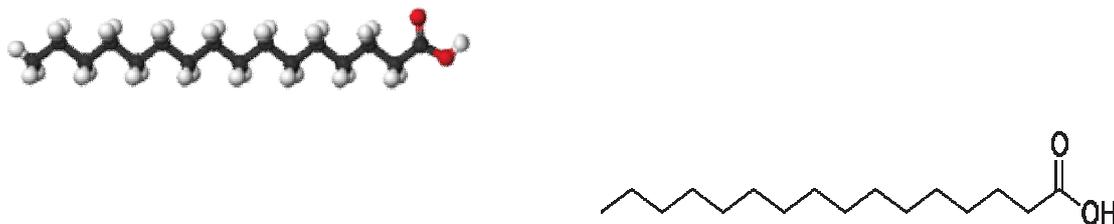


Figure 2.4: Structure de l'acide palmitique (RAISONNIER, 2010)

#### d) Acide stéarique

L'acide stéarique est un acide gras à chaîne longue, qu'on symbolise par les nombres 18:0 pour indiquer qu'il a 18 atomes de carbone et aucune liaison covalente double: c'est un acide gras saturé. À température ambiante, il forme un solide blanc. Sa température de fusion est d'environ 70 °C.

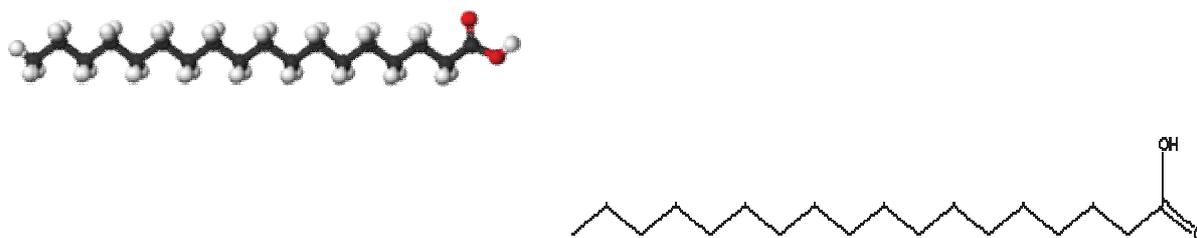


Figure 2.5: Structure de l'acide stéarique (RAISONNIER, 2010)

Quatre acides gras sont utilisés dans le protocole expérimental de cette étude, ils sont testés dans les traitements contre *C. maculatus*. Ils proviennent de la société allemande **Sigma-Aldrich**. A la température ambiante, les acides oléique (pur à 100%) et linoléique (pur à 75%) se présentent sous forme liquide. Les acides palmitique et stéarique sont vendus sous forme de cristaux blancs. Dans le **Tableau 2.1**, sont consignées les propriétés physiques et chimiques de ces acides gras.

Tableau 2.1 : Propriétés physiques et chimiques des principaux acides gras (ANONYME 2, 2015)

|                             | Acide Oléique   | Acide Linoléique   | Acide Palmitique   | Acide Stéarique   |
|-----------------------------|---|--|--|---|
| <i>Propriétés Physiques</i> |   |  |  |   |
| <b>Apparence</b>            | Jaune pâle ou brun huileux                                  | Incolore   | Cristaux incolores ou blancs                                       | Cristaux blancs odeur caractéristique                       |
| <b>T° de fusion</b>         | 13.4 °C   | -5 °C ou -12 °C  | 63.0 °C  | 68.8 °C   |
| <b>Solubilité</b>           | Nulle dans l'eau. Soluble dans : éthanol, benzène, éther    | Dans l'alcool, Miscible avec les huiles, les solvants gras   | Nulle dans l'eau. Soluble dans l'éthanol chaud, éther, chloroforme | 0.597 mg/L (eau 25°C)                                       |
| <b>Masse volumique</b>      | 0.898 g/cm <sup>3</sup>                                     | 0.902 g/ml à 25 °C   | 0.8527 g/cm <sup>3</sup> à 62°C                                    | 0.9408 g/cm <sup>3</sup>                                    |
| <b>Densité</b>              | 0.895 g/ml  | 0.852 g/cm <sup>3</sup> à 20 °C                              | 0.853 g/cm <sup>3</sup> à 6°C                                      | 0.895 g/ml  |
| <i>Propriétés Chimiques</i> |   |  |  |   |
| <b>Formule brute</b>        | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>              | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>               | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                     | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>              |
| <b>Masse molaire</b>        | 282.4614±0.0174 g/mol<br>C=76.54%,<br>H=12.13%,<br>O=11.33% | 280.4455 ±0.0172 g/mol<br>C=77.09%,<br>H=11.50%,<br>O=11.41% | 256.4241±0.0156 g/mol<br>C=74.94%,<br>H=12.58%,<br>O=12.48%        | 284.4772±0.0175 g/mol<br>C=76.00%,<br>H=12.76%,<br>O=11.25% |

## 2.3 METHODES

### 2.3.1 Analyse de l'huile d'olive

#### a) Indice d'acidité

La méthode qui permet de déterminer l'indice d'acidité de l'huile d'olive est exposée en **Annexe III**. L'huile d'olive utilisée dans ce programme expérimental est classée comme étant des huiles vierges courantes dont l'indice d'acidité est à chaque fois compris entre 2,0g et 3,3g selon les normes **COI**. Dans le cas contraire, elle est rejetée.

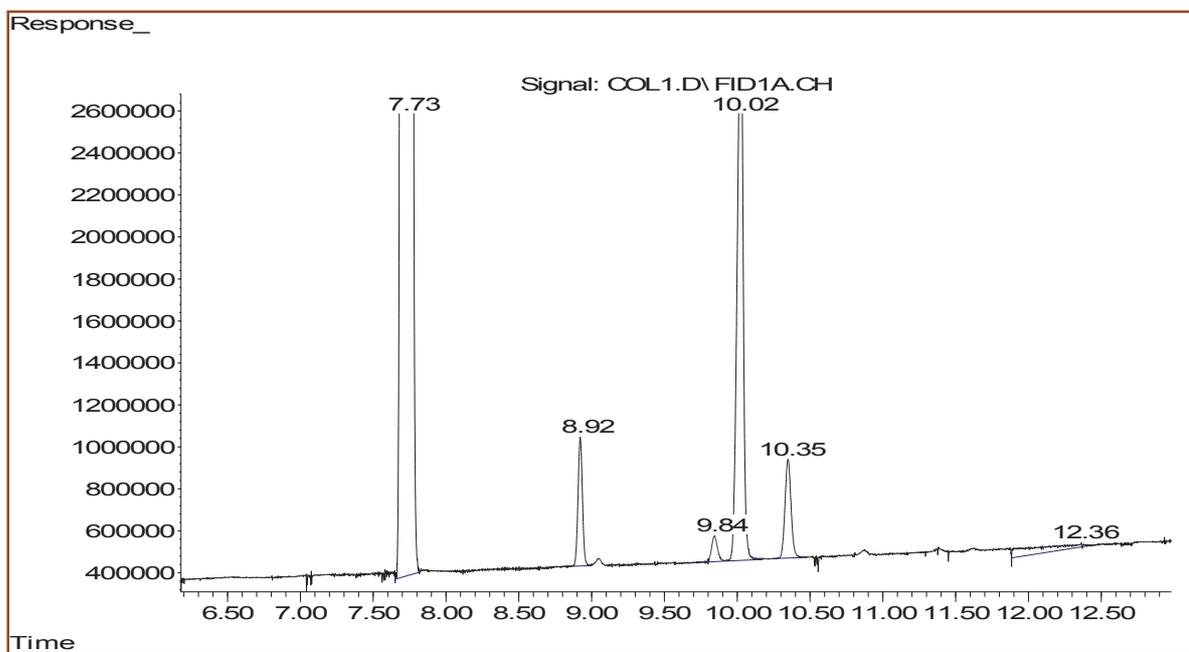
*Lorsque des triglycérides sont dégradés, les acides gras qui les constituaient sont détachés et errent librement dans l'huile: ils sont alors dits « acides gras libres ». Leur pourcentage dans l'huile est ce que l'on appelle « acidité » de l'huile, et s'exprime en « grammes d'acide oléique libre pour 100 g d'huile ». Cette acidité ne se perçoit jamais sous forme de goût acide, mais plutôt comme un goût de moisi.*

### b) Analyse des acides gras de l'huile d'olive

Les acides gras d'un échantillon de l'huile utilisée ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse sous forme d'esters méthyliques à l'Ecole Nationale Préparatoire aux Etudes d'Ingéniorat de Rouiba (ENPEI). Les esters méthyliques acides sont séparés et filtrés par des filtres millipores puis quantifiés par chromatographie gazeuse modèle (Hewlett- Packard 6890) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) en utilisant les conditions suivantes :

- La colonne capillaire HP WAX (polaire) (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m),
- Le gaz vecteur : Azote,
- Le débit du gaz : 0,8 ml/mn,
- La température de l'injecteur : 250°C,
- La température du détecteur : 250°C,
- La température de la colonne : 200°C durant 20 mn jusqu'à 240°C avec une vitesse de programmation de 2°C par mn,
- Le volume injecté : 0,2 $\mu$ l.

Le pourcentage de chaque constituant dans l'huile est calculé par intégration des aires du chromatogramme. L'examen du chromatogramme de cette huile (**Figure 2.6**) révèle que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (C18 :1) avec 71,86%, suivi de l'acide linoléique (C18 : 2) avec 12,75%, de l'acide palmitique (C16 : 0) et l'acide stéarique (C18 : 0) avec des proportions respectives de 12,24% et 3,13%.

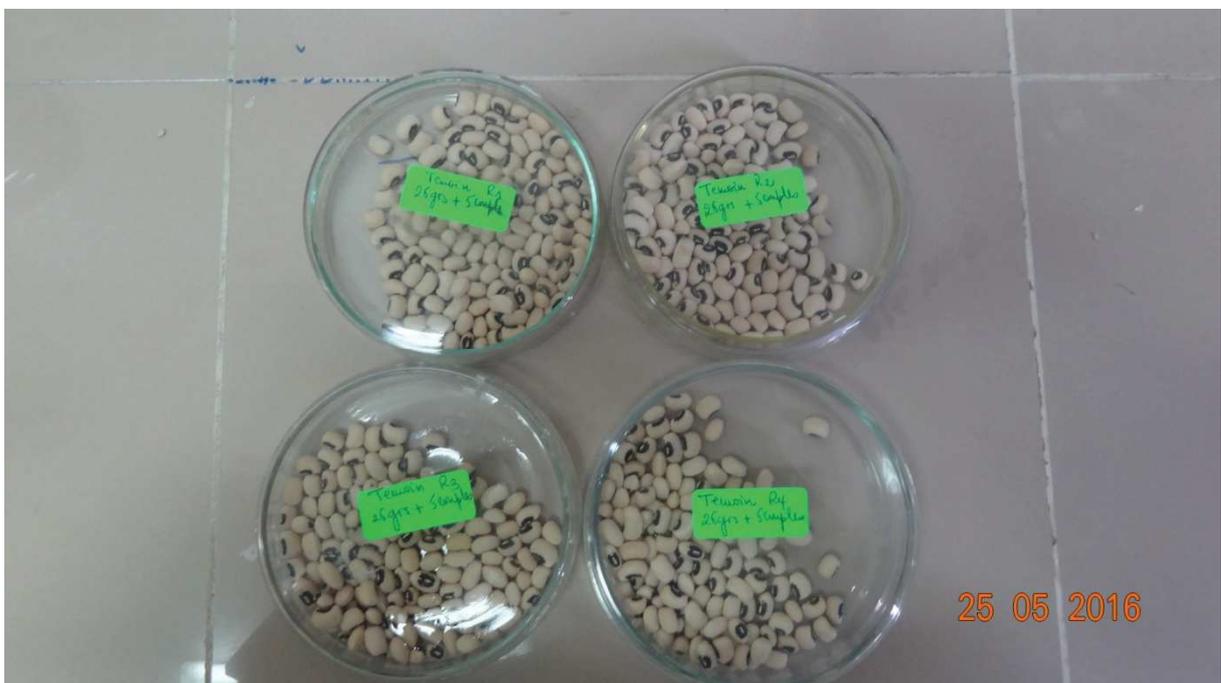


**Figure 2.6** : Chromatogramme de la composition en acides gras de l'huile d'olive déterminée par GPC/FID

### 2.3.2 Préparation des différents traitements

Six traitements sont réalisés sur la bruche du niébé: Il s'agit de l'huile d'olive (**HO**), l'acide oléique (**AO**), l'acide linoléique (**AL**), l'acide stéarique (**AS**), l'acide palmitique (**AP**) et d'un mélange des acides gras (**MAG**). Ces traitements sont effectués dans des boîtes de Pétri ( $\varnothing = 10$  cm,  $h = 2$  cm) contenant 25 g de graines saines de niébé.

Après avoir déposé une dose appropriée de la substance étudiée sur les graines dans la boîte de Pétri, le tout est mélangé à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à obtenir une assez bonne répartition du produit sur les graines. Ensuite, 5 couples de bruches âgées de moins de 24 heures, sont introduits dans la boîte de Pétri qui est aussitôt hermétiquement fermée (**Figure 2.7**).



**Figure 2.7** : Tests par contact (Laboratoire d'Entomologie Appliquée, UMMTO)

Afin d'obtenir une solution homogène, les cristaux blancs des acides palmitique et stéarique (**Figure 2.8**) sont dilués dans un solvant (éthanol à 96°). L'éthanol a été choisi parce qu'il assurait la meilleure solubilité de ces 2 acides gras saturés (comparativement à d'autres tels que l'acétone, le benzène, le chloroforme, ...). Pour faire dissoudre les cristaux, il est introduit une quantité d'acide dans une éprouvette graduée puis nous ajustons avec de l'éthanol à 96° jusqu'à atteindre le volume souhaité. Chaque solution obtenue a été versée dans un bécher de 20 ml puis mise dans une étuve réglée à 63°C et 70°C correspondant aux températures de fusion respectives de l'acide palmitique et de l'acide stéarique. Les graines de niébé, pesées et placées

dans des boîtes de Pétri, ont été également mises dans l'étuve pendant 5 mn à 55°C car la cristallisation (solidification) de la solution préparée est rapide à température ambiante, notamment pour l'acide palmitique.

Lors des traitements avec les deux acides gras saturés (le palmitique et le stéarique), les graines ont été séchées durant 30 mn sous un courant d'air afin d'arriver à une évaporation complète du solvant utilisé dans la dilution.



Figure 2.8 : Cristaux des acides palmitique et stéarique

Un mélange des 4 acides gras a été également préparé en mettant dans un bécher 6,4ml d'acide oléique + 1ml d'acide linoléique + 0,83g d'acide palmitique + 0,26g d'acide stéarique. Les quantités (volume ou masse) d'acides gras utilisées ont été auparavant calculées en fonction de l'état solide ou liquide des acides et de leur concentration dans l'huile d'olive testée. La préparation obtenue est placée dans une étuve réglée à 70°C pendant 10 mn. La dissolution des cristaux d'acide palmitique et d'acide stéarique est suivie d'une agitation à l'aide d'un agitateur magnétique. Les doses testées de ce mélange sont 100 et 200µl/25g de graines de niébé.

Dans les lots témoins, les graines n'ont subi aucun traitement. Tous les essais ont été réalisés en 4 répétitions.

Tous les détails des différents traitements utilisés sont portés dans le **Tableau 2.2**.

Tableau 2.2

Les différents traitements effectués sur les graines de niébé

| Traitement                     | Symbole | Dosage/25g de graines |     |     |     |     |     |
|--------------------------------|---------|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Huile d'Olive (µl)             | HO      | 0.00                  | 100 | 200 | 300 | 400 | –   |
| Acide Oléique (µl)             | AO      | 0.00                  | 25  | 50  | 75  | 100 | 125 |
| Acide Linoléique (µl)          | AL      | 0.00                  | 25  | 50  | 75  | 100 | 125 |
| Acide Stéarique (mg/ml)        | AS      | 0.00                  | 20  | 30  | 40  | 50  | –   |
| Acide Palmitique (mg/ml)       | AP      | 0.00                  | 80  | 160 | 240 | 320 | –   |
| Mélange des 4 Acides Gras (µl) | MAG     | 0.00                  | 100 | 200 | –   | –   | –   |

### 2.3.3 Observations au microscope électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (**MEB** ou **SEM** pour *Scanning Electron Microscopy*) est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière. Le microscope électronique à balayage du Laboratoire de Physique et Chimie Quantique (**LPCQ**) de l'**UMMTO** a été utilisé pour effectuer des observations sur les œufs prélevés sur le tégument de la graine, les larves du premier stade extraites délicatement sous les chorions des œufs et les adultes. Ce microscope électronique à balayage environnemental (**MEB**) est de type Philips XL30 **ESEM** à filament de tungstène (**W**). Les échantillons (non traités et traités avec de l'huile d'olive) sont fixés à la bande adhésive de carbone dopé (double face) avant de procéder à des examens.

### 2.3.4 Tests biologiques

#### a) Tests par contact

Pour évaluer l'activité biologique des substances testées, les paramètres biologiques suivants ont été mesurés:

- *Longévité des adultes*: Après le lancement de chaque test, la mortalité des adultes est enregistrée quotidiennement jusqu'à la mort de toutes les bruches [**Nombre**]. Pour quantifier la toxicité des traitements, la DL50, dose entraînant la mortalité de la moitié (50%) de la population traitée, est calculée (**Annexe X**).

- *Fécondité des femelles*: 15 jours après le lancement des tests, un comptage des œufs fertiles et stériles est effectué à l'aide d'une loupe binoculaire (Grx40). Les œufs fertiles sont reconnaissables par leur aspect blanc laiteux ou à l'apparition de la capsule céphalique de la larve du premier stade après éclosion [**Nombre**].
- *Éclosion des œufs* (viabilité embryonnaire): Le taux d'éclosion des œufs est calculé comme suit:  $[(\text{Nombre d'œuf éclos} / \text{Nombre d'œufs pondus}) * 100]$  (en %).
- *Émergence des bruches adultes* (viabilité post-embryonnaire): L'examen consiste à dénombrer régulièrement les individus émergés du 21<sup>ème</sup> au 45<sup>ème</sup> jour après le lancement de chaque test [**Nombre**].

### ***b) Tests post infestation***

Une fois que les premiers signes d'effets insecticides sont établis et appréciés sur un ou plusieurs traitements donnés, des essais complémentaires sur l'effet de ces produits retenus sur les larves, abritées dans des graines préalablement infestées, sont entrepris. Ces essais post-infestation permettent d'observer leurs impacts sur l'évolution des stades larvaires cachés de *C. maculatus*. L'organisation de ces tests post infestation se déroule comme suit :

- L'élevage de masse sera réalisé comme décrit précédemment en **2.2.2**.
- Au bout de 24 heures d'exposition, tous les adultes de bruches seront retirés des bocaux.
- Dans des boites de Pétri seront placés 50 œufs éclos. Les œufs sont comptés sur des graines en utilisant une loupe binoculaire (Grx40). Seules les graines portant 1 à 3 œufs seront sélectionnées pour les tests.
- Les traitements par contact seront ensuite effectués sur des individus issus des 50 œufs, il s'agit des larves **L1** (à 8 jours), **L3** (à 15 jours) et **L4** (à 18 jours).
- La viabilité post-embryonnaire est évaluée en dénombrant quotidiennement les individus émergés de la **F1**. [**Nombre**]

### ***c) Paramètres agronomiques des graines***

- *Pertes en poids*: L'infestation du niébé par *C. maculatus* commence dans les champs et rapidement son nombre s'accroît pendant le stockage causant ainsi une diminution du poids des graines. Ces pertes sont exclusivement dues à l'activité des larves qui se nourrissent de matières cotylédonaire en laissant des galeries aboutissant à des perforations à la surface tégumentaire de la graine. Ces bruches réduisent non seulement le poids mais aussi la qualité et la viabilité des graines.

Pour estimer les pertes en poids, des pesées des lots de graines traitées et non traitées sont effectuées juste après l'émergence de la première génération (au 45<sup>ème</sup> jour après le lancement de la manipulation), à l'aide d'une balance de précision.

- *Faculté germinative des graines*: 50 graines de niébé ont été prélevées au hasard de chaque lot (témoin, traités), et placées dans une boîte de Pétri bordée de coton humidifié (**Figure 2.9**). Celle-ci est déposée sur une paillasse du laboratoire à température ambiante pendant 5 à 6 jours, puis le taux de germination est calculé à l'aide de la formule suivante: (%) (Nombre de graines germées/50) x100. 4 répétitions ont été réalisées pour chaque dose testée.



Figure 2.9: Test de germination des graines de *V. unguiculata*

#### d) *Effet du traitement sur la qualité des graines*

Comme l'huile d'olive est hautement oxydable, il faut évaluer le niveau de son oxydation durant toute la période d'entreposage de cette légumineuse. En général, l'entreposage se fait dans un endroit sec, frais et bien aéré. L'huile d'olive est très riche en acides gras mono et polyinsaturés. Ils sont donc très oxydables. Cette oxydation génère des produits très néfastes pour la santé humaine (cétones et autres). Donc, il est indispensable de connaître l'évolution de l'indice de peroxyde (IP) au cours de l'entreposage ainsi que d'autres marqueurs qui peuvent témoigner de l'oxydation. Cet indice permet donc d'évaluer le degré d'oxydation des acides gras insaturés de l'huile par un processus de rancissement.

- *Indice de peroxyde*: L'indice de peroxyde permet d'évaluer le degré d'oxydation des acides gras insaturés de la matière grasse (rancissement). Plus celui-ci est élevé, plus la matière grasse est oxydée. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, trace de métaux,...) (CHEFTEL et CHEFTEL, 1992). L'indice de peroxyde (IP), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kg ( $\text{meqO}_2/\text{kg}$ ) d'huile a été déterminé par la méthode de référence (ISO 3960) (Annexe IV). L'IP a été résolu par dissolution d'une masse d'huile d'olive dans un mélange d'acide acétique et du chloroforme, la réaction est déclenchée à l'abri de la lumière en présence d'une solution saturée d'iodure de potassium (KI). Après un temps de repos, l'iode libéré a été dosé par une solution de thiosulfate de sodium à 0,01N en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré. Un essai témoin (sans matière grasse) a été réalisé dans les mêmes conditions.

En termes de valeurs nutritionnelles, un suivi quantitatif et qualitatif des matières grasses, des protéines, des cendres, de l'humidité, des glucides et de la valeur énergétique a été entrepris. Tous ces éléments présentent une valeur biologique pour la santé humaine. Les matières suivantes ont été déterminées au Laboratoire sur des graines traitées et non traitées et conservées sur une période de trois mois:

- *Matières Grasses* : La méthode **Soxhlet** est la méthode de référence utilisée pour l'extraction des huiles végétales à partir des haricots solides déshydratés. Elle est basée sur le principe de la définition des lipides : Insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. C'est une méthode gravimétrique puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction. L'échantillon broyé (broyat) est entassé dans une cartouche qui est déposée dans le **Soxhlet** avec 200 ml de solvant pour chaque extraction. 75 cl de solvant sont versés directement sur le broyat et les 25cl restants sont versés dans le ballon dans lequel sont déposés au préalable quelques grains de pierres ponce. Le tout est porté à ébullition dans le thermostat. L'extraction a été réalisée à l'aide de l'éther de pétrole 96 à ébullition qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant l'huile végétale retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. La matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther de pétrole est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif.

- *Protéines* : La méthode de **KJELDAHL (1883)** est une technique de détermination du taux d'azote dans un échantillon. Quand l'azote est sous forme organique, il faut d'abord procéder à la minéralisation du composé pour passer à de l'azote minéral. On détruit la molécule organique en l'oxydant à ébullition avec de l'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentré, en présence de catalyseur : le carbone s'élimine

sous forme de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), l'hydrogène sous forme d'eau et l'azote reste en solution sous forme d'ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). La détermination de l'azote d'un milieu protidique permet de connaître la proportion de protéines de ce milieu. Conventionnellement on admet que toutes les protéines renferment 16% d'azote et on utilise le coefficient 6,25 pour passer de l'azote total aux protéines.

Le dosage s'effectue en deux temps:

- La matière organique est attaquée par l'acide sulfurique concentré, et en présence de catalyseur l'azote passe à l'état d'ion ammonium (c'est la minéralisation);
- L'ammoniaque est déplacée par la soude, base plus forte. Par chauffage, elle distille avec l'eau. L'ammoniaque est recueillie dans la solution d'acide borique et dosée par une solution d'acide sulfurique dilué et de titre bien connu.

On procède aux calculs des résultats comme suit:

$$\text{N (\%)} = [0,014 * 0,1 * (V_2 - V_1)] * 10 / \text{MPE}$$

Avec

**MPE**: masse de prise d'essai (g),

$V_1$ : volume d'**HCl** utilisé pour le dosage blanc,

$V_2$ : volume d'**HCl** à partir duquel l'indicateur vire du vert au rose,

0,1 = Titre de la solution d'acide chlorhydrique

0,014 = Poids molaire de l'azote  $10^{-3}$

En utilisant l'hypothèse que la matière azotée totale (**MAT**) provient exclusivement de protéines contenant 16% de N, et avec le facteur de conversion égal à 6,25, on obtient:

$\text{N (\%)} = \text{Pourcentage d'Azote}$

$\text{PPT (\%)} = \text{Pourcentage de Protéine Totale} = \text{N (\%)} * 6,25$

- *Cendres* : L'incinération des échantillons se fait à une température de 550°C. Les substances organiques sont transformées en  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{CO}_2$  et le reste constitue les cendres brutes formées d'éléments minéraux (**MULTON, 1991**).

Une quantité de 5g de graines est mise dans une capsule (creuset) d'incinération préalablement tarée, puis dans le four à moufle dont la température est réglée à 550°C. Après 6 h d'incinération, les capsules, contenant les cendres brutes, sont refroidies et pesées. La teneur en cendres brutes, **TC (%)**, exprimée en g pour 100 g de matière sèche, est calculée comme suit :

Le taux de cendres est alors obtenu comme suit:

$$\text{TC (\%)} = [(m_1 - m_2) / (m_1 - m_0)] * 100$$

Où :

$m_0$  : masse du creuset vide

$m_1$  : masse du creuset + échantillon (séché à l'étuve à 105°C)

$m_2$  : masse du creuset + résidu calciné

- *Humidité* : La méthode consiste en une dessiccation à l'étuve de l'échantillon à une température de  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ . Une quantité de 5g de graines d'haricot dolique traité est introduite dans une capsule sèche. La farine est par la suite mise à l'étuve à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 24h. Des pesées sont effectuées régulièrement toutes les heures jusqu'à l'obtention d'une masse constante.

La teneur en eau, **TE (%)**, en g pour 100 g d'échantillon, est calculée selon la formule:

$$\text{TE (\%)} = [(m_1 - m_2) / (m_1 - m_0)] * 100$$

Où :

$m_0$ : masse en g de la capsule vide

$m_1$ : masse en g de la prise d'essai et de la capsule avant séchage

$m_2$ : masse en g de la prise d'essai et la capsule après séchage

La teneur en matière sèche, **MS (%)**, en g pour 100g d'échantillon, est ensuite déduite selon la formule:

$$\text{MS (\%)} = 100 - \text{TE (\%)}$$

- *Glucides* : Les glucides sont déduits par les autres éléments pour arriver à 100%. Le % d'oligo-éléments est déjà inclus dans les cendres.

Taux de Glucides, **TG (%) = 100 - (PPT + PMG + TC + TE)**

- *Valeur énergétique* : La valeur énergétique a été calculée en tenant compte des coefficients d'ATWATER (**GREENFIELD et SOUTHGATE, 1992**) selon l'expression suivante :

$$\text{Valeur Energétique (VE) (Kcal/100g)} = (\text{TG} * 4 + (\text{PPT} * 4) + (\text{PMG} * 9))$$

**e) Essais de rémanence**

Si l'on connaît le rapport existant entre l'insecte et l'insecticide ainsi que les facteurs qui affectent cette relation, il est alors possible de limiter le nombre des traitements insecticides à opérer contre les ravageurs. Pour des raisons de coût, de salubrité publique et de protection de l'environnement, il est donc souhaitable de limiter le nombre de traitements pour retarder ou éviter l'apparition de manifestations de résistance (**HAUBRUGE et AMICHOT, 1998**). Les graines des légumineuses, à l'instar de celles du niébé, sont appelées à être conservées et protégées pour des périodes plus ou moins longues, des essais sur la rémanence de chacun des produits retenus comme étant potentiellement insecticides apporteront certainement des indications sur les fréquences des traitements à entreprendre. A cet effet, des tests de rémanence sont effectués avec des graines de niébé traitées afin de déterminer l'activité létale sur des périodes allant du 1<sup>er</sup> au 9<sup>ème</sup> mois de stockage. Voici les principales étapes à suivre pour mener à bien cette étude de la rémanence:

- Pour les besoins des tests, il faut placer une quantité suffisante, environ 2kg, de graines de niébé traitées dans des bocaux en verre convenablement scellés.
- Seuls les traitements vérifiés et reconnus potentiellement efficaces à l'encontre de *C. maculatus*, dans les tests par contact, sont utilisés pour étudier leur rémanence.
- Les graines traitées et conservées depuis une période variant de 1 à 9 mois sont mises en contact avec les bruches.
- A chacune de ces périodes écoulées depuis la date de traitement, l'activité biologique des substances testées et leur persistance sont évaluées sur les mêmes paramètres que ceux des tests par contact présentés précédemment en **2.3.4 a**.

Ces essais sur la rémanence des traitements à l'égard de l'insecte ravageur sont complétés par l'évaluation des paramètres agronomiques de *V. unguiculata* tels que présentés en **2.3.4 c**.

# **CHAPITRE 3**

## **ANALYSE DES RESULTATS**

---

## ANALYSE DES RESULTATS

---

### 3.1- MESURE DU POTENTIEL INSECTICIDE DES TRAITEMENTS

#### 3.1.1 Tests par Contact

##### *a) Analyse statistique*

L'analyse des données, l'élaboration des graphes et le calcul statistique ont été effectués en utilisant le langage R (**LAFAYE DE MICHEAUX et al., 2014**), un logiciel de calcul scientifique interactif libre qui possède une large collection d'outils statistiques et graphiques. Pour évaluer l'effet insecticide des six traitements (l'acide oléique, linoléique, stéarique, palmitique, le mélange des 4 acides gras, l'huile d'olive) et de la dose utilisée sur les différentes variables (longévité, fécondité, éclosion des œufs, descendance de *C. maculatus*), il est nécessaire de vérifier si les données obtenues suivent une loi normale. Cet examen permet alors de choisir le test d'hypothèse le plus approprié.

L'analyse des données correspondant aux quatre (04) variables mesurées a montré qu'aucune d'elles ne suit une loi normale. Cela est d'ailleurs conforté par le test d'hypothèse de **Shapiro-Wilks** qui donne les p-values ne dépassant guère le seuil de 5% (**Tableau 3.1**). L'option d'utilisation du test non paramétrique de **Kruskall-Wallis** est alors largement soutenue (**DAGNELIE, 1975**).

Tableau 3.1: Test de Shapiro Wilks (Paramètres biologiques)

| Variable          | p-value                | Décision      |
|-------------------|------------------------|---------------|
| Longévité         | $3.550 \cdot 10^{-9}$  | Non-normalité |
| Fécondité         | $2.633 \cdot 10^{-6}$  | Non-normalité |
| Eclosion des œufs | $8.654 \cdot 10^{-9}$  | Non-normalité |
| Descendance       | $2.707 \cdot 10^{-10}$ | Non-normalité |

### b) Effet du type de traitement sur les paramètres biologiques de *C. maculatus*

Le boxplot longévité-type de traitement (**Figure 3.1**) montre que les différentes substances utilisées n'agissent pas sur la longévité (exprimée en jours) des adultes de *C. maculatus* car les médianes de la longévité sont situées presque sur un même plateau de valeurs. Ceci est d'ailleurs confirmé par le test de **Kruskal-Wallis** avec une p-value de  $6,901 \cdot 10^{-2} > 0,05$ .

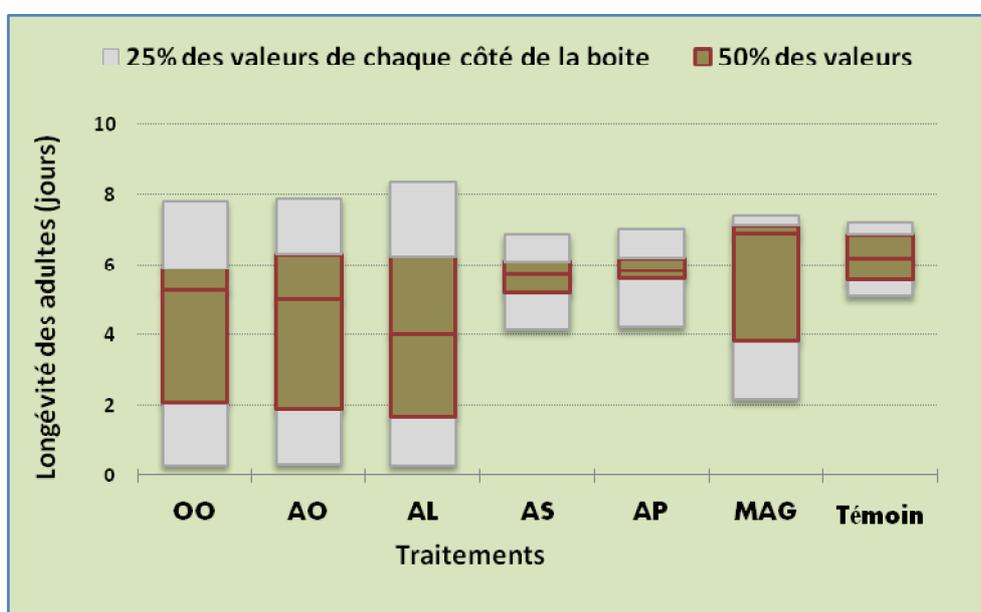


Figure 3.1: Fluctuations des valeurs de la longévité pour les différents traitements

La **Figure 3.2** montre que le jeu des données de la fécondité présente clairement une différence en fonction du traitement (avec une p-value égale à  $1,580 \cdot 10^{-2}$ ). La plus petite valeur de la médiane (50) est obtenue dans le traitement à l'huile d'olive, elle est suivie de l'acide linoléique et de l'acide oléique et la plus grande valeur (230) est

affectée à l'acide palmitique et à l'acide stéarique. La même tendance a été observée pour le paramètre éclosion (**Figure 3.3**) avec une p-value égale à  $1,560 \cdot 10^{-2}$  où la plus grande valeur est affectée à l'acide stéarique avec 152 œufs éclos.

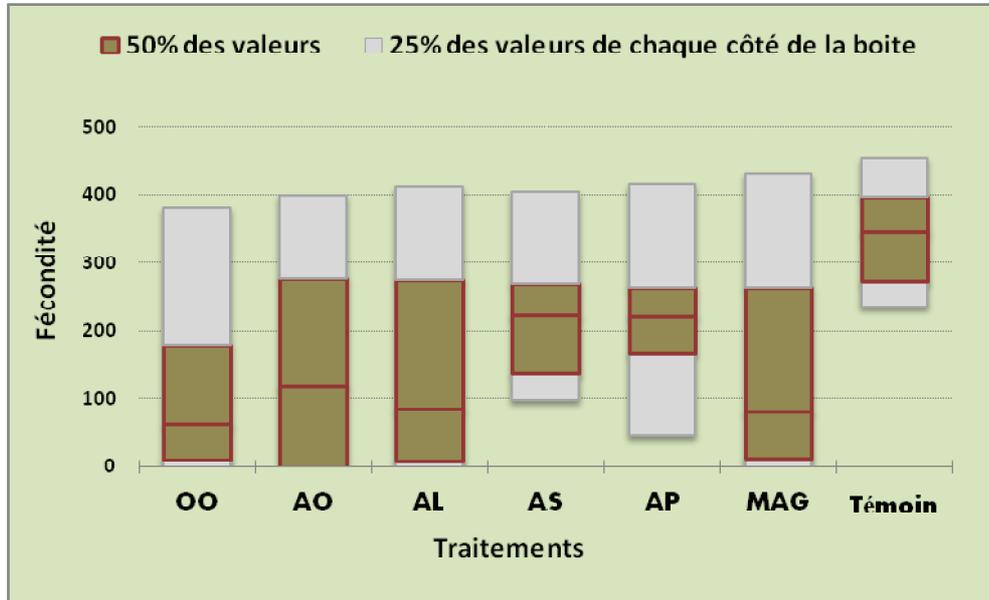


Figure 3.2: Fluctuations des valeurs de la fécondité pour les différents traitements

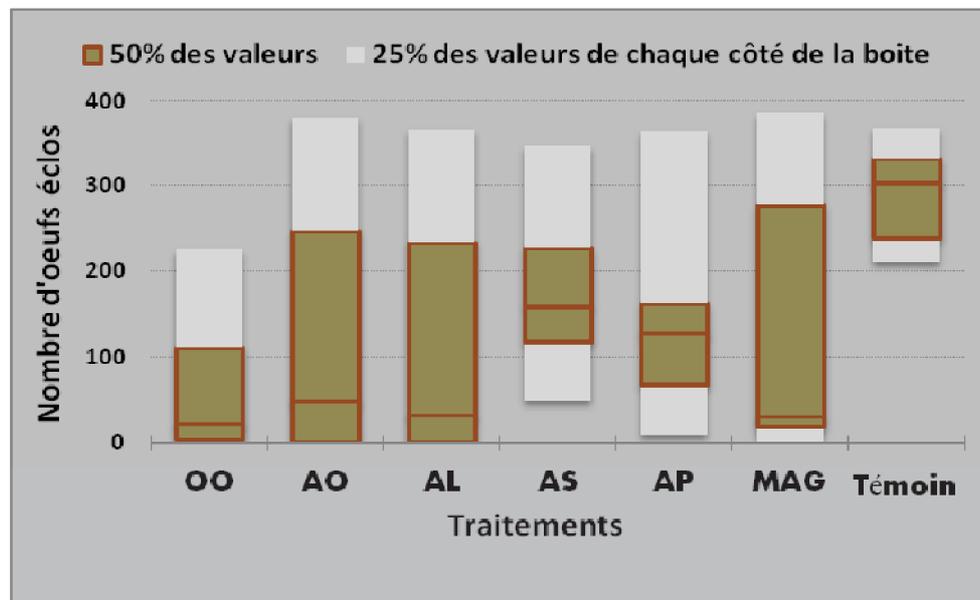


Figure 3.3: Fluctuations du nombre d'œufs éclos pour les différents traitements

Le boxplot Descendance-Type du traitement (**Figure 3.4**) montre que les 6 produits testés réduisent d'une manière très hautement significative le nombre d'adultes émergents chez *C. maculatus* (p-value égale à  $9,444 \cdot 10^{-4}$ ). Le nombre de descendants

est plus particulièrement affecté dans les lots traités avec l'huile d'olive, le mélange des 4 acides gras, ainsi que les acides oléique et linoléique.

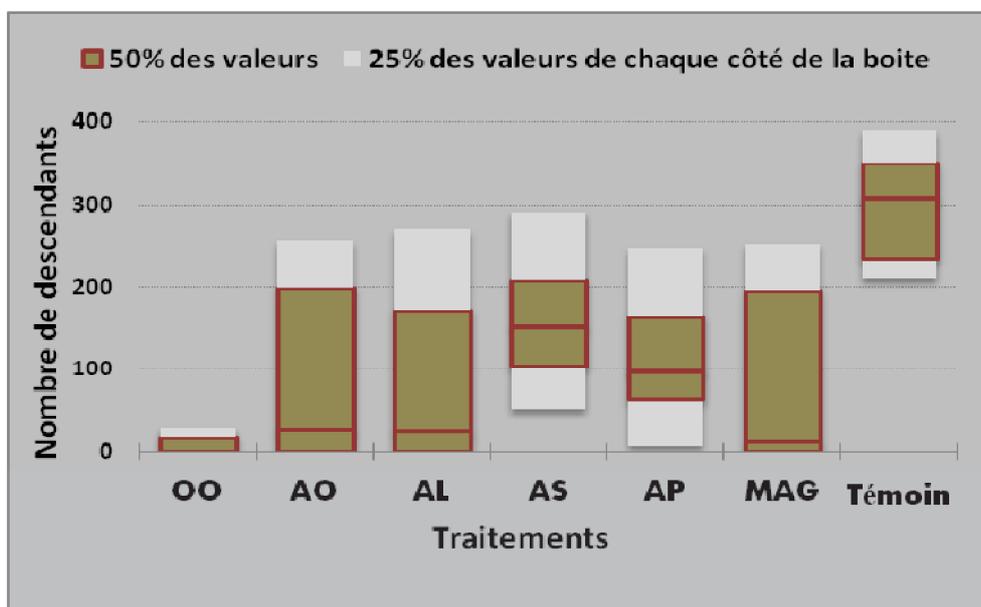


Figure 3.4: Fluctuations du nombre de descendants dans les différents traitements

### c) Effet de la dose du traitement sur les paramètres biologiques de *C. maculatus*

- *Sur la longévité* : Le boxplot longévité-dose (Figure 3.5) indique que la longévité diminue au fur et à mesure que la dose des traitements effectués augmente. Ceci est confirmé par le test de **Kruskal-Wallis** avec une p-value =  $2,647 \cdot 10^{-11}$ , très proche de zéro, ce qui signifie qu'il y a une forte dépendance entre la dose et la longévité.

En effet, à la plus forte dose ( $125\mu\text{l}/25\text{g}$ ) d'acide oléique et d'acide linoléique, les bruches vivent moins de 24 h. Un résultat similaire a été enregistré avec l'huile d'olive à la dose  $400\mu\text{l}/25\text{g}$ . Ces doses correspondent aux doses létales engendrant la mort de 100% des individus. Les doses létales (DL50) de ces produits sont  $262,4\mu\text{l}/25\text{g}$  pour l'huile d'olive,  $77,5\mu\text{l}/25\text{g}$  pour l'acide oléique et  $88,2\mu\text{l}/25\text{g}$  pour l'acide linoléique (Annexe X). Cela signifie que l'acide oléique, avec une DL50 plus faible, est plus actif comparativement à l'acide linoléique et l'huile d'olive. Par contre, les traitements avec l'acide stéarique, l'acide palmitique ainsi que le mélange des 4 acides gras ont un effet moins important sur la longévité des adultes de *C. maculatus*. Avec les plus fortes concentrations en acide stéarique ( $50\text{mg}/\text{ml}$ ) et en acide palmitique ( $320\text{mg}/\text{ml}$ ), nous avons enregistré une longévité moyenne d'environ 5 jours, ces valeurs diffèrent très peu de celle du témoin (6 jours).

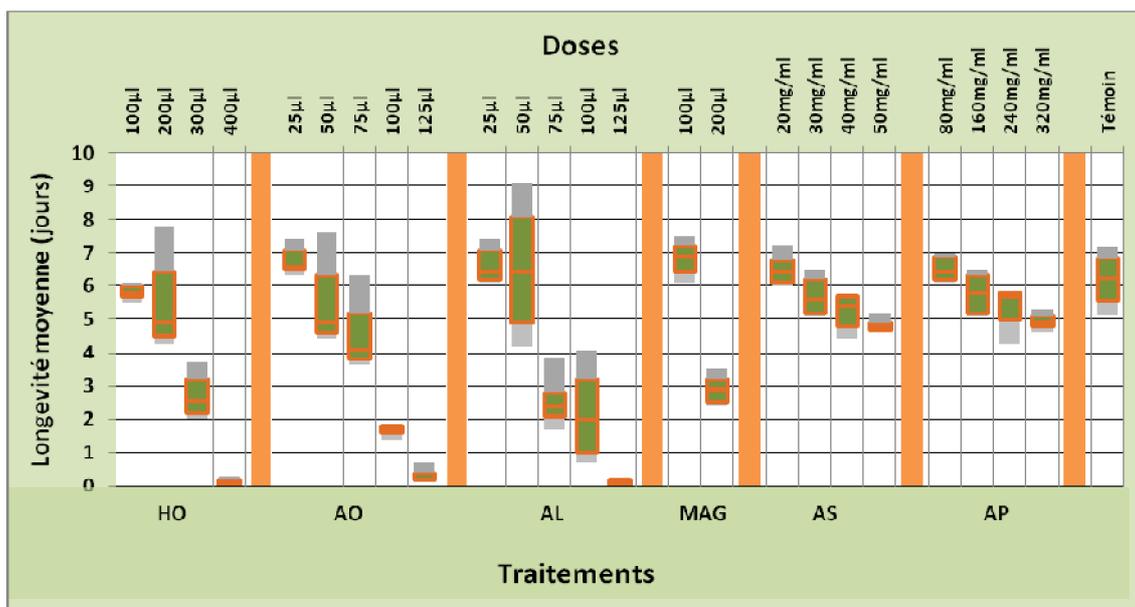


Figure 3.5: Diagramme en boîtes Longévité/Doses

- *Sur la fécondité* : Les résultats (**Figure 3.6**) montrent que le facteur dose agit d'une manière très hautement significative sur le nombre d'œufs pondus par la bruche du niébé. Ceci est approuvé par le test de **Kruskal-Wallis** avec une p-value =  $7,363 \cdot 10^{-10}$ , ce qui signifie que la dépendance est forte avec la fécondité.

Dans tous les traitements, la fécondité des femelles est inversement proportionnelle à la dose et ce, quelque soit la substance utilisée. En effet, pour l'acide linoléique et l'acide oléique, le nombre d'œufs pondus diminue considérablement à partir de la dose 75µl, pour s'annuler à la dose 125µl, car les femelles périssent en moins de 24 heures, avant qu'elles n'arrivent à pondre. Cette tendance est observée dans les traitements avec l'huile d'olive, à la dose 400µl, où la ponte est complètement inhibée. Pour le reste des traitements, le nombre d'œufs pondus, à la plus forte dose, reste important, il est de l'ordre de 85 œufs/5 femelles (acide stéarique), 132 œufs/5 femelles (acide palmitique) et 29 œufs /5 femelles (mélange).

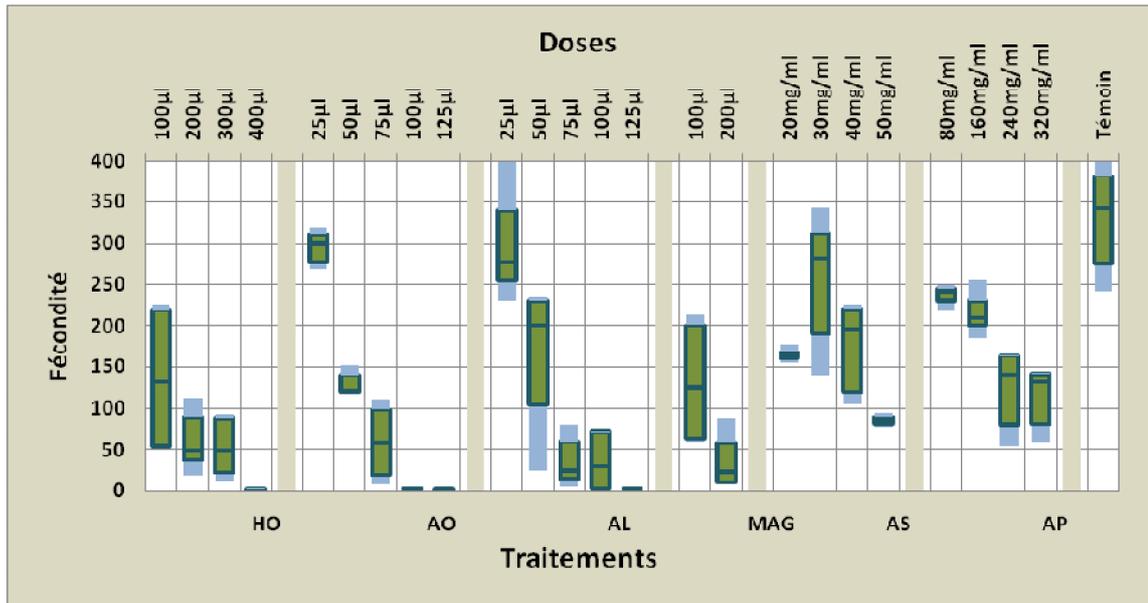


Figure 3.6: Diagramme en boîtes Fécondité/Doses

- Sur l'éclosion des œufs : Les valeurs des fécondités comparées à celles des éclosions des œufs (Figure 3.7), montrent que la dose agit également de manière très hautement significative sur la viabilité des œufs. Ceci est prouvé par le test de **Kruskall-Wallis** avec une p-value =  $1,136 \cdot 10^{-11}$ , ce qui veut dire qu'il y a une forte dépendance entre le paramètre éclosion des œufs et la dose testée. Dans les lots témoins, le nombre moyen d'œufs éclos est de 318 (92,8% des œufs pondus).

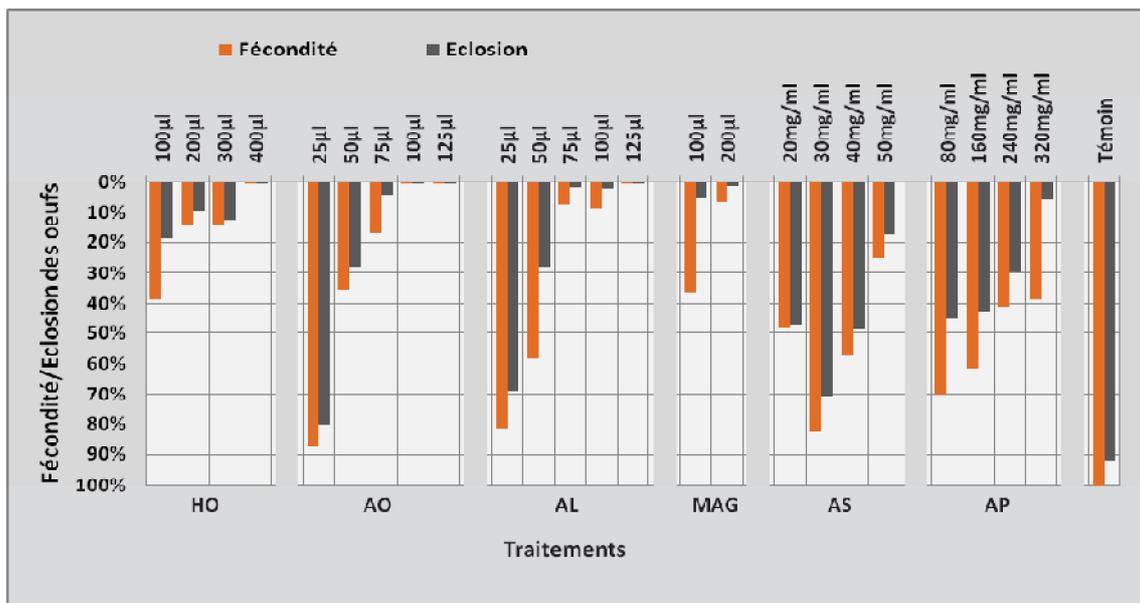


Figure 3.7: Taux de fécondité et d'éclosion des œufs-Traitements et Doses

Il est nettement supérieur à celui des lots traités avec les différentes doses et ceci pour chaque traitement. L'effet le plus marqué est observé à partir de la dose 75µl pour l'acide oléique et 50µl pour l'acide linoléique, 100µl pour le mélange et 320mg/ml pour l'acide palmitique.

- *Sur la descendance* : Les résultats (**Figure 3.8**) indiquent que toutes les doses testées réduisent de façon très significative les émergences de *C. maculatus*, comparativement à la série témoin (226,5 adultes). Plus la dose est élevée, plus son efficacité augmente. Le test de **Kruskal-Wallis**, avec une p-value très proche de zéro ( $6,060 \cdot 10^{-15}$ ), indique d'ailleurs cette étroite dépendance avec la descendance.

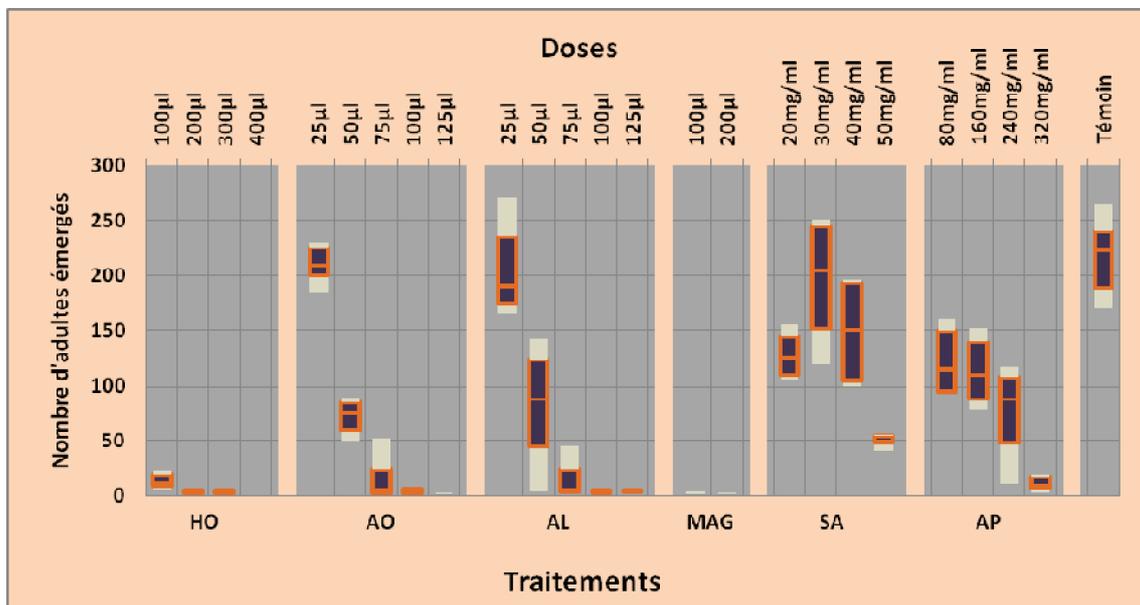


Figure 3.8: Diagramme en boîtes Emergences/Doses

Aucun adulte n'émerge dans les traitements effectués avec l'acide oléique, l'acide linoléique ainsi qu'avec le mélange à partir de la dose de 100 µl. A la dose de 200 µl d'huile d'olive, la survie post-embryonnaire est également nulle.

#### d) Discussion des résultats des tests par contact

Cette étude a permis de mettre en évidence l'effet insecticide de l'huile d'olive (HO), de deux acides gras (l'acide oléique et l'acide linoléique) testés séparément (AO et AL) et à un degré moindre, du mélange des quatre principaux acides gras de l'huile d'olive (MAG) à l'encontre de *C. maculatus*. En effet, les traitements réalisés réduisent significativement la longévité, la fécondité, le nombre d'œufs éclos ainsi que les émergences, au fur et à mesure que la dose des différents traitements augmente.

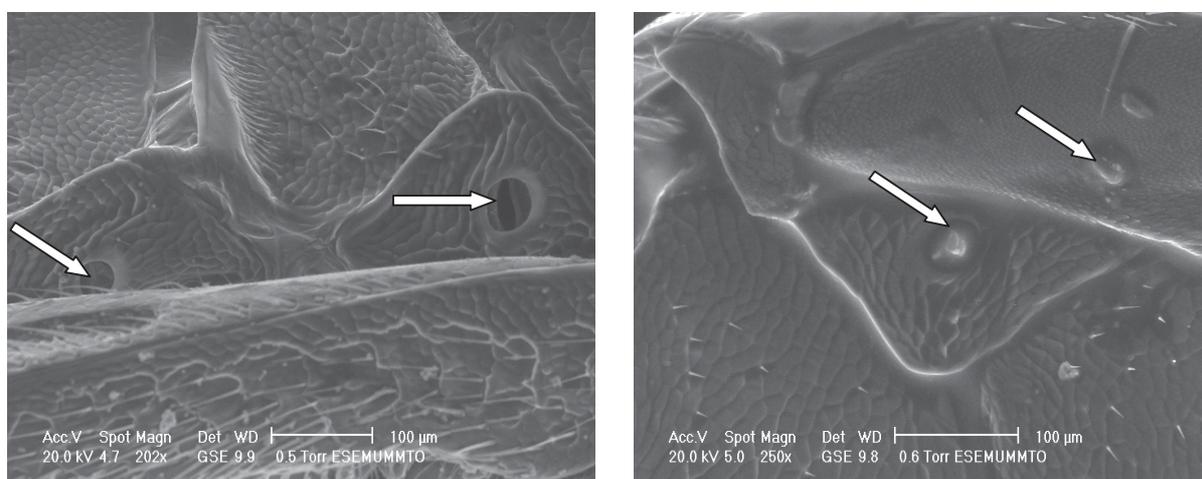
Plusieurs travaux ont montré que les huiles végétales ont une activité phytothérapeutique similaire et prometteuse à l'égard des insectes ravageurs des denrées entreposées, notamment la bruche du niébé (**LIENARD et al., 1993; RAMZAN, 1994; PACHECO et al., 1995; AHMED et al., 1999; KELLOUCHE et al., 2004; NANA et al., 2014**).

Les résultats obtenus font ressortir d'emblée qu'après traitement des graines de *V. unguiculata*, à la dose de 400µl/25g d'huile d'olive et 125 µl/25g d'acide oléique ou d'acide linoléique, les bruches adultes vivent moins de 24 heures, empêchant ainsi les femelles de pondre, et aucune émergence n'est enregistrée. La réduction de la durée de vie des adultes est vraisemblablement due à la toxicité par contact de ces traitements. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **REGNAULT-ROGER et al. (2002)** qui ont mis en exergue l'activité insecticide de certains acides gras tels que l'acide oléique en **C18** et l'acide undécylénique en **C11**. **DON PEDRO (1990)** a également mis en évidence l'efficacité des acides oléique et linoléique, testés à la dose de 14ml/kg de niébé, sur la survie et la descendance de *C. maculatus*. En revanche, **PARR et al. (1998)** estiment que l'acide oléique stimule les pontes de *C. maculatus*, mais à un taux élevé, il peut être dissuasif (déterrant). Les travaux de **KELLOUCHE et al. (2004)** révèlent aussi que l'huile d'olive provoque une mortalité totale des adultes de *C. maculatus* après 2 heures seulement à la dose 0,8 ml/50g de graines de niébé. Par ailleurs, **RAJAPAKSE et VANEMDEN (1997)** ont démontré l'efficacité des huiles de soja et de ricin (5 et 10 ml/kg de pois chiche) et des huiles de tournesol, de maïs, d'arachide et de sésame (10 ml/kg de haricot) à l'égard de la bruche du niébé. Ces traitements réduisent la longévité et les pontes, sans affecter le pouvoir germinatif des graines. Toujours dans le même ordre d'idées, les travaux de **NANA et al. (2014)** ont établi l'activité biocide des huiles de ricin et de coton sur *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). En effet, après 120 heures d'exposition, ces auteurs ont noté que la mortalité des adultes était de 99,1% et de 74,1%, à la dose la plus élevée (9ml/kg), avec respectivement l'huile de ricin et l'huile de coton. La suppression totale de la descendance a été obtenue avec les graines traitées avec l'huile de ricin (9ml/kg). Cependant, **OSEKRE et AYERTEY (2002)** mentionnent que les huiles de coco, de palme et de frytol, appliquées aux doses de 4, 6, et 10 ml/kg de niébé, n'affectent pas la longévité, mais réduisent les pontes et les émergences de *C. maculatus*.

Plus récemment, la bio-activité de plusieurs huiles végétales a été rapportée par de nombreux auteurs comme **MUSTAFA et ALI (2011), SILVA et al. (2012), UDDIN et SANUZI (2013), ABDOUL HABOU et al. (2014) et WAHEDI et al. (2015)**. Ces huiles présentent des effets très significatifs sur la mortalité des adultes et sur la ponte des femelles de *C. maculatus* et ce particulièrement aux doses 1 et 1,5ml/10g de graines de niébé.

**BAMAIYI et al. (2006)** ont comparé l'effet de l'huile d'acajou (*Khaya senegalensis*) à celui d'un insecticide (Pirimiphos méthyl) connu pour être un insecticide de contact et fumigant pour lutter contre *C. maculatus*, dans les entrepôts de stockage du niébé. L'huile d'acajou provoque une mortalité totale des adultes au bout de 24 heures d'exposition et réduit significativement les émergences de la première génération. Sur tous les paramètres observés, l'huile de *K. senegalensis* a montré un potentiel insecticide comparable à celui du Pirimiphos méthyl.

Ces traitements de contact sur les bruches adultes induisent la formation d'un film d'huile qui obture aussi les orifices respiratoires, ou stigmates, privant ainsi l'insecte d'oxygène et provoquant son asphyxie. Les observations au microscope électronique à balayage (**MEB**) montrent clairement ces obstructions des stigmates respiratoires dues au traitement (**Figure 3.9B**). La toxicité des acides gras s'exerce par la rupture des membranes cellulaires, sur la phosphorylation oxydative et sur la cuticule des insectes (**WEINZEIRL, 1998**). D'après **RACCAUD-SCHOELLER (1980)**, la cuticule de ces insectes est principalement constituée de chitine qui est un polysaccharide azoté. En contact avec l'un de ces traitements, **HO, AO** ou **AL**, il ya formation d'un polyester de couleur blanche à la surface de l'insecte qui résulterait probablement de la réaction entre OH du polysaccharide et l'acide gras (R-COOH).



**A:** Stigmates respiratoires chez un adulte de *C. maculatus* ayant évolué sur des graines non traitées.

**B:** Stigmates respiratoires chez un adulte de *C. maculatus* ayant évolué sur des graines traitées.

**Figure 3.9:** Photographie (**MEB**) des stigmates respiratoires des adultes de *C. maculatus*

Concernant l'effet des traitements sur la ponte des femelles, il a été observé une réduction importante de la fécondité lorsque le dosage augmente et ce quelque soit le type de traitement. Les résultats sont en accord avec ceux rapportés par **OSEKRE et AYERTEY (2002)**, **KELLOUCHE et al. (2004)**, **ABD EL RAZIK et al. (2013)** et **ABDOUL HABOU et al. (2014)**. La réduction de la ponte, sur les graines de niébé

traitées, peut être causée par le dépôt d'un film issu des traitements (**HO**, **AO**, **AL** et **MAG**) ou par un film formé par les cristaux (**AS** et **AP**) sur les graines dont la surface devient impropre à la ponte, ie, une réduction de l'adhérence des œufs. Ces traitements peuvent également avoir un effet déterrant à l'égard des femelles *C. maculatus*. D'après **KELLOUCHE** et **SOLTANI (2004)**, la réduction de la fécondité n'est pas seulement liée à la diminution de la période de ponte ou de survie des femelles adultes mais elle peut être aussi la conséquence d'une perturbation du processus de vitellogenèse. **AHMED et al. (2001)** ont signalé une diminution de la fréquence d'accouplement chez les adultes, de la durée de copulation, de la fécondité et du taux d'émergence chez *Callosobruchus chinensis* se développant sur le haricot, variété azuki, suite à un traitement à l'huile de neem.

L'huile d'olive, l'acide oléique, l'acide linoléique et le mélange des 4 acides gras testés ont manifesté une activité ovicide marquée. Selon **CREDLAND (1992)** et **LIENARD et al. (1993)**, cette toxicité s'explique par un mécanisme physique réduisant l'adhérence des œufs sur le tégument des graines et /ou l'occlusion de leur micropyle, entraînant ainsi l'avortement des œufs. Les résultats que nous avons obtenus confirment les travaux de ces auteurs puisque l'examen, au microscope électronique à balayage, des œufs pondus sur des graines déjà traitées, permet de constater un dépôt de produits dans le micropyle situé dans la partie postérieure de l'œuf, la voie à travers laquelle se font les échanges gazeux (**Figure 3.10B**). D'après **DON PEDRO (1989)**, l'activité ovicide serait due également à l'accumulation des métabolites toxiques qui inhibent l'activité métabolique des œufs.

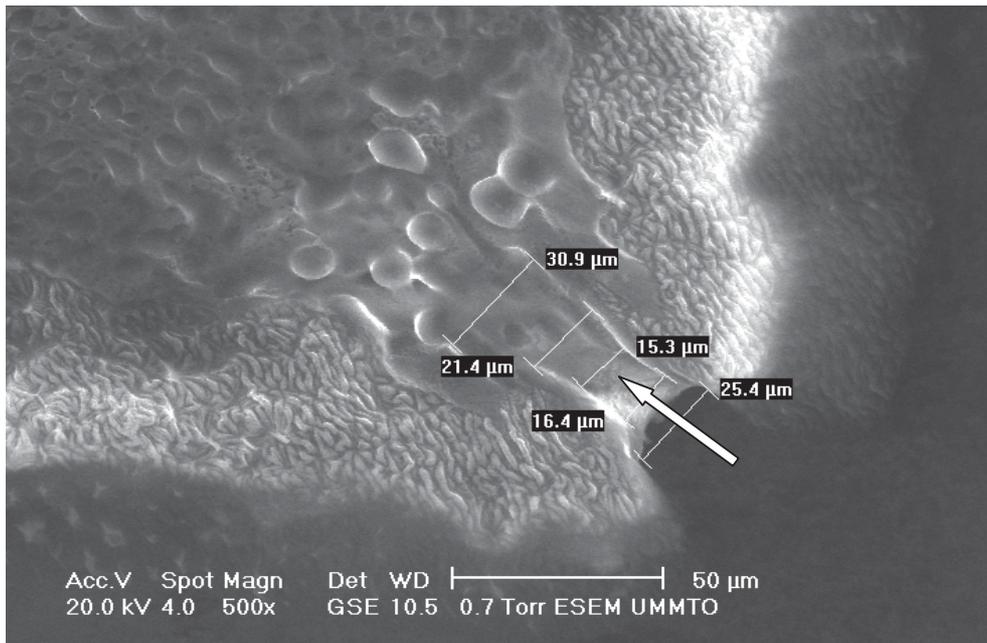


Photo A

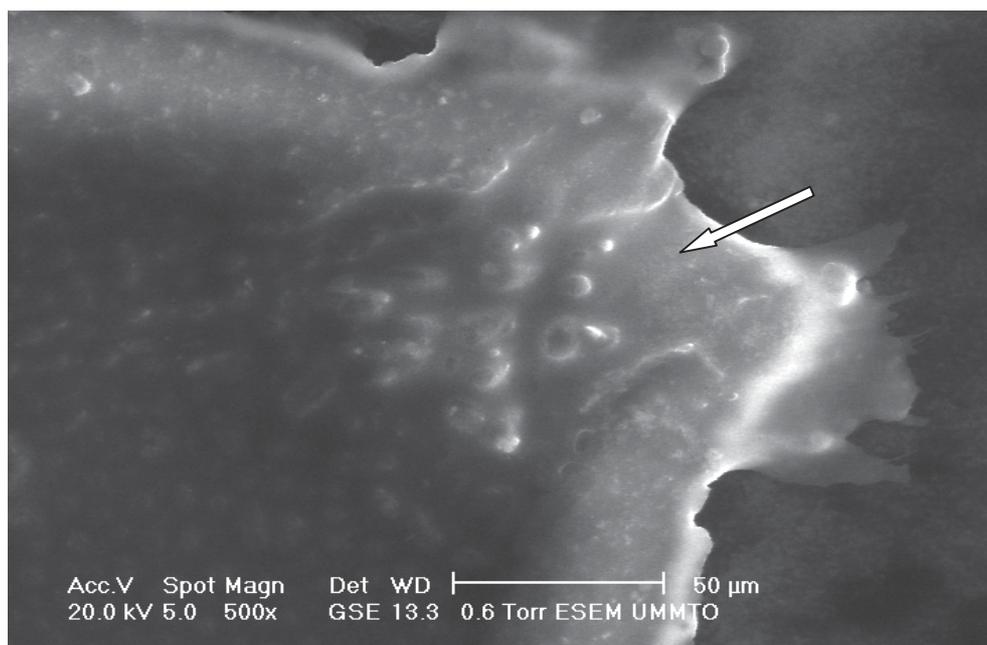
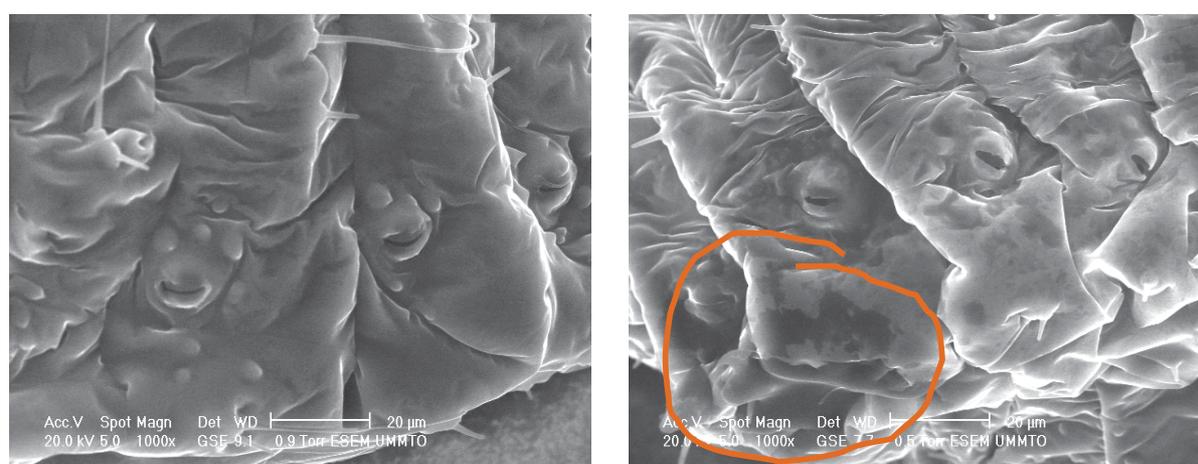


Photo B

**Figure 3.10:** Photographie au MEB de la partie postérieure de l'œuf

- A: Partie postérieure d'un œuf de *C. maculatus* non traité
- B: Partie postérieure d'un œuf de *C. maculatus* ayant évolué dans un milieu traité avec l' HO

Ces quatre traitements entravent également d'une manière significative le développement des larves du premier stade de *C. maculatus*. Durant l'expérimentation, il a été noté que les L1 meurent sous le chorion de l'œuf avant de pénétrer dans la graine. Pour tenter d'expliquer le mode d'action de ces traitements, des examens au MEB ont été effectués sur ces larves du stade L1. Il ressort que le traitement ne pénètre pas par les orifices respiratoires mais diffuse à travers la cuticule de la larve néonate. La **Figure 3.11B** montre la présence de taches d'huiles sur certaines parties du corps de la larve. Une telle activité larvicide des huiles végétales et de leurs principaux constituants sur cet insecte a été également signalée par **SECK (1994)** ainsi que **KELLOUCHE et al. (2004)**.



**A (à gauche)** : Larve du 1<sup>er</sup> stade ayant évolué sur une graine de niébé non traitée

**B (à droite)** : Larve du 1<sup>er</sup> stade ayant évolué sur une graine de niébé traitée

**Figure 3.11** : Photographie au MEB du premier stade larvaire de *C. maculatus*

Dans les lots traités, la réduction des émergences chez *C. maculatus* peut être une conséquence de la réduction de la ponte, et des effets ovicide et larvicide des produits testés. D'après **KELLOUCHE (2005)**, la réduction des descendants de la première génération de *C. maculatus* est supérieure à 90% dans les traitements réalisés avec l'huile d'olive de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> pression. **RAMZAN (1994)** a rapporté également que les traitements des graines de *Vigna radiata*, avec les huiles issues des graines de coton, tournesol, arachide, soja, moutarde (dose = 30ml/kg) inhibent complètement l'émergence des adultes de la bruche du niébé.

Le mélange des quatre acides gras réduit significativement les pontes, l'éclosion des œufs et la population des descendants de la première génération. Ceci pourrait se traduire par l'existence d'une activité synergique ou même additive entre les différents

acides gras de l'huile d'olive, le même constat a été rapporté par **LIENARD et al. (1993)**.

La faible activité des acides stéarique et palmitique, dilués dans l'éthanol, sur tous les paramètres biologiques étudiés, comparativement au reste des traitements, s'expliquerait par leur solidification et/ou cristallisation rapide sur les graines après évaporation du solvant. Ce phénomène a été remarqué par **DON PEDRO (1990)** en testant l'acide laurique dilué dans l'acétone contre *C. maculatus*.

#### ***e) Conclusion sur les résultats des tests par contact***

Les résultats fournis dans les tests par contact permettent de mettre en évidence l'activité insecticide de l'huile d'olive et des principaux acides gras qu'elle contient, notamment l'acide oléique et l'acide linoléique, en affectant l'ensemble des paramètres biologiques de *C. maculatus*. Le traitement à l'huile d'olive présente en plus un avantage d'être disponible et moins coûteux aux fermiers. L'huile d'olive est également caractérisée par une faible toxicité et une biodégradabilité avérée qui offrent une certaine assurance sur le plan sanitaire et environnemental. L'acide oléique présente également un intérêt grandissant au vu de son prix accessible, ce qui n'est pas le cas de l'acide linoléique, un produit connu pour être très onéreux. En conclusion, les traitements à base d'huile d'olive et d'acide oléique peuvent faire objet d'autres tests afin de confirmer ce potentiel insecticide à l'égard de la bruche du niébé.

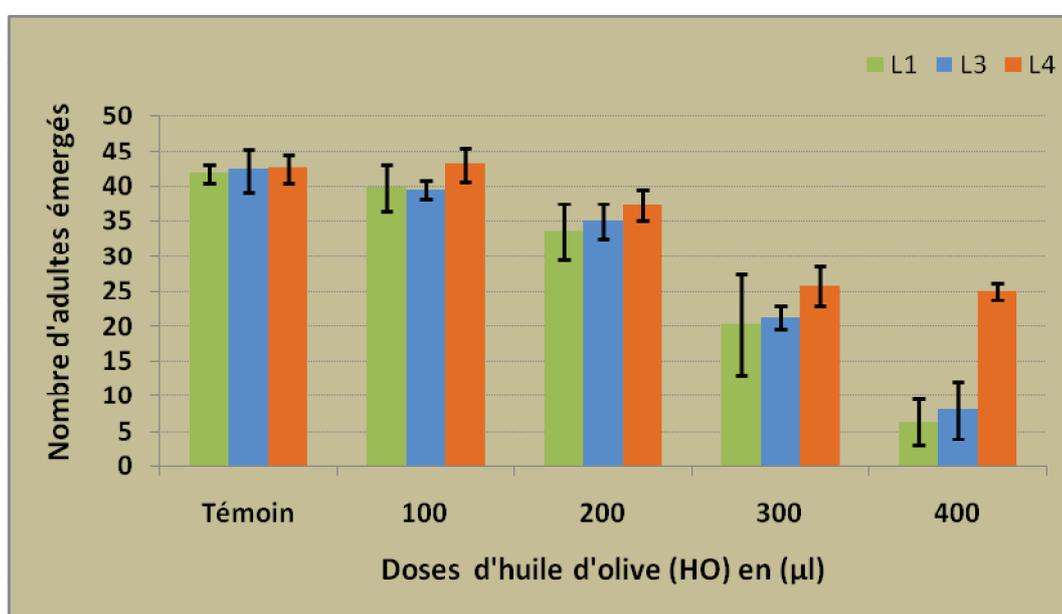
### **3.1.2 Tests sur les larves évoluant dans les graines de niébé (Effet curatif)**

Malgré l'existence d'une activité insecticide des traitements avec de l'acide linoléique, le choix est porté sur les traitements à base d'huile d'olive et de l'acide oléique et ce pour des considérations économiques. Des essais complémentaires sur l'effet de ces produits retenus sur les larves contenues dans des graines préalablement infestées ont été entrepris. Ainsi, ces tests sont réalisés afin d'évaluer les effets des traitements sur l'évolution des stades larvaires cachés de *C. maculatus*.

Les résultats du dénombrement des individus émergés sont soumis à une analyse de la variance à deux facteurs (Dose, Stade larvaire). Lorsque cette analyse montre des différences significatives, elle est complétée par le test de **NEWMAN** et **KEULS** au seuil  $P=5\%$  (Logiciel, Stat box, Version 6.40).

**a) Traitement avec l'huile d'olive (HO)**

Les résultats obtenus montrent que le nombre d'adultes émergés (viabilité post embryonnaire) diminue avec l'augmentation de la dose d'huile d'olive (**Figure 3.12**). Cette diminution est plus prononcée pour les larves **L1** et **L3** pendant que les larves **L4** sont toujours plus résistantes au traitement. En effet, à la dose 400 $\mu$ l, le nombre d'adultes émergents, quand le traitement intéresse le premier stade larvaire, est de 6 adultes/50 œufs éclos (14,4%, comparativement au témoin). Le nombre de descendants a atteint 25 (59%, comparativement au témoin) dans les traitements des graines abritant des larves âgées (**L4**).



**Figure 3.12** : Nombre d'adultes de *C. maculatus* émergés dans les traitements à base d'huile d'olive (**HO**) des graines infestées par les différents stades larvaires

L'analyse de la variance montre que les deux facteurs (dose et stade larvaire) agissent de façon très hautement significative sur le nombre d'adultes émergés. Il en est de même pour l'interaction des deux facteurs ( $p = 3 \cdot 10^{-5}$ ) (**Tableau 3.2**).

**Tableau 3.2:** Résultats de l'analyse de la variance (seuil de 5%) de l'effet de l'huile d'olive (HO) sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

|  | S.C.E.   | DDL | C.M.     | Test F  | Proba   | E.T.  | C.V.   |
|--|----------|-----|----------|---------|---------|-------|--------|
| <b>Var. Totale</b>                     | 9033.732 | 59  | 153.114  |         |         |       |        |
| <b>Var. Facteur 1 (Dose)</b>           | 7585.732 | 4   | 1896.433 | 185.118 | 0.00001 |       |        |
| <b>Var. Facteur 2 (Stade larvaire)</b> | 480.132  | 2   | 240.066  | 23.434  | 0.00001 |       |        |
| <b>Var. Inter F1*F2</b>                | 506.868  | 8   | 63.359   | 6.185   | 0.00003 |       |        |
| <b>Var. Résiduelle 1</b>               | 461      | 45  | 10.244   |         |         | 3.201 | 10.41% |

Le test de **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, classe le facteur dose dans 4 groupes homogènes (a, b, c et d). Le groupe d contient la dose 400 $\mu$ l qui engendre le nombre moyen d'adultes émergés le plus faible ( $13,083 \pm 2,808$ ) (**Tableau 3.3**).

**Tableau 3.3:** Résultats du test **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'huile d'olive (HO) suivant le facteur dose sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

| F1 (Dose)  | Libelles.   | Moyennes           | Groupes Homogènes |
|------------|-------------|--------------------|-------------------|
| <b>1.0</b> | 0.0 $\mu$ l | 42.167 $\pm$ 2.056 | a                 |
| <b>2.0</b> | 100 $\mu$ l | 40.750 $\pm$ 2.251 | a                 |
| <b>3.0</b> | 200 $\mu$ l | 35.250 $\pm$ 2.726 | b                 |
| <b>4.0</b> | 300 $\mu$ l | 22.417 $\pm$ 4.159 | c                 |
| <b>5.0</b> | 400 $\mu$ l | 13.083 $\pm$ 2.808 | d                 |

Pour le facteur 2 (stade larvaire), le test classe les résultats dans 2 groupes homogènes a et b, les larves âgées (a) sont moins sensibles aux traitements que les larves L1 et L3 (b) (**Tableau 3.4**).

**Tableau 3.4:** Résultats du test **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'huile d'olive (**HO**) suivant le stade larvaire traité sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

| F2 (Stade Larvaire) | Libelles | Moyennes   | Groupes Homogènes |
|---------------------|----------|------------|-------------------|
| 3.0                 | L4       | 34.7±1.980 | a                 |
| 2.0                 | L3       | 29.2±2.412 | b                 |
| 1.0                 | L1       | 28.3±3.818 | b                 |

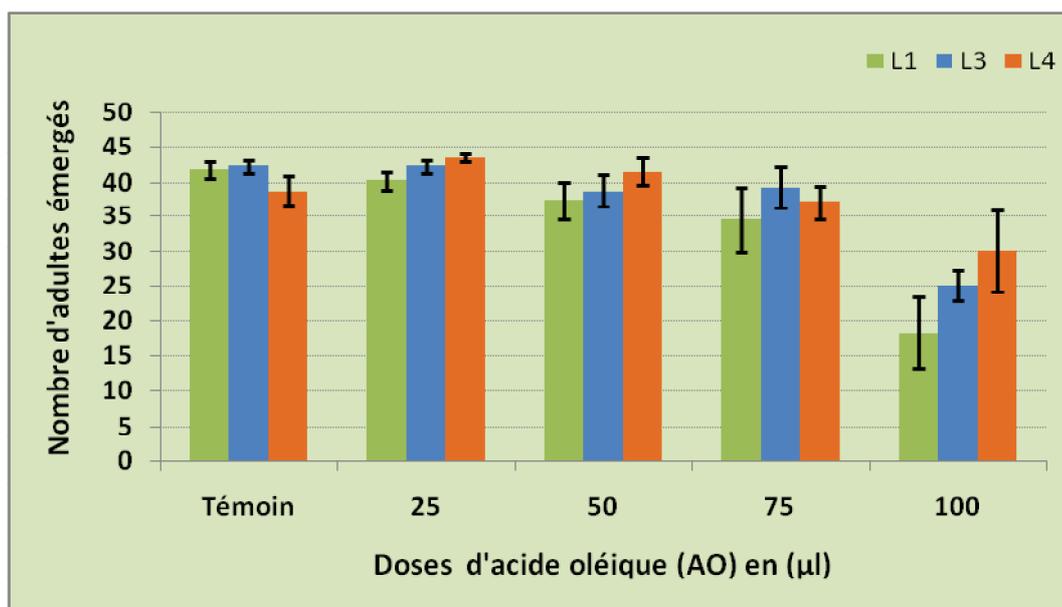
Pour l'interaction entre les deux facteurs, 5 groupes homogènes (a, b, ab, c et d) sont mis en évidence. Le groupe (a) regroupe le nombre moyen d'adultes émergés le plus élevé. Par contre le groupe (d) réunit les deux moyennes les plus faibles (8,00 et 6,25) obtenues à la dose 400µl d'huile d'olive en traitant respectivement les **L3** et **L1** (**Tableau 3.5**). L'interaction dose – stade larvaire révèle que les larves **L1** et **L3** sont plus sensibles aux traitements que les **L4**.

**Tableau 3.5:** Résultats du test **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'huile d'olive (**HO**) suivant l'interaction dose-stade larvaire sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

| F1*F2   | Libelles  | Moyennes    | Groupes Homogènes |
|---------|-----------|-------------|-------------------|
| 2.0*3.0 | 100 µl*L4 | 43.00±2.449 | a                 |
| 1.0*3.0 | 0.0 µl*L4 | 42.50±2.082 | a                 |
| 1.0*2.0 | 0.0 µl*L3 | 42.25±3.096 | a                 |
| 1.0*1.0 | 0.0µl*L1  | 41.75±1.258 | a                 |
| 2.0*1.0 | 100µl*L1  | 39.75±3.304 | ab                |
| 2.0*2.0 | 100µl*L3  | 39.50±1.291 | ab                |
| 3.0*3.0 | 200µl*L4  | 37.25±2.217 | ab                |
| 3.0*2.0 | 200µl*L3  | 35.00±2.449 | b                 |
| 3.0*1.0 | 200µl*L1  | 33.50±4.041 | b                 |
| 4.0*3.0 | 300µl*L4  | 25.75±2.872 | c                 |
| 5.0*3.0 | 400µl*L4  | 25.00±1.155 | c                 |
| 4.0*2.0 | 300µl*L3  | 21.25±1.708 | c                 |
| 4.0*1.0 | 300µl*L1  | 20.25±7.228 | c                 |
| 5.0*2.0 | 400µl*L3  | 08.00±4.082 | d                 |
| 5.0*1.0 | 400µl*L1  | 06.25±3.304 | d                 |

**b) Traitement avec l'acide oléique (AO)**

La **Figure 3.13** montre que la dose 100 $\mu$ l est la plus efficace comparativement aux autres doses. En effet, en utilisant un traitement à base d'acide oléique (AO) avec une dose de 100 $\mu$ l, une diminution du nombre de descendants a été observée et ce quel que soit le stade larvaire traité. Avec cette dose, les larves **L1** ont été plus sensibles au traitement comparativement aux **L3** et **L4**.



**Figure 3.13:** Nombre d'adultes de *C. maculatus* émergés après traitement avec l'acide oléique (AO) des différents stades larvaires

L'analyse de la variance a révélé que les deux facteurs (dose et stade larvaire) agissent de façon très hautement significative ( $p = 0$  pour la dose et  $p = 4,3 \cdot 10^{-4}$  pour le stade larvaire) sur le nombre d'adultes émergés. L'interaction entre ces deux facteurs est considérée comme étant hautement significative ( $p = 2,26 \cdot 10^{-3}$ ) (**Tableau 3.6**).

**Tableau 3.6:** Résultats de l'analyse de la variance (seuil de 5%) de l'effet de l'acide oléique (AO) sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

|  | S.C.E.   | DDL | C.M.    | Test F | Proba   | E.T.  | C.V.  |
|--|----------|-----|---------|--------|---------|-------|-------|
| <b>Var. Totale</b>                     | 3226.983 | 59  | 54.695  |        |         |       |       |
| <b>Var. Facteur 1 (Dose)</b>           | 2434.566 | 4   | 608.642 | 71.746 | 0.00001 |       |       |
| <b>Var. Facteur 2 (Stade larvaire)</b> | 160.633  | 2   | 80.316  | 9.468  | 0.00043 |       |       |
| <b>Var. Inter F1*F2</b>                | 250.034  | 8   | 31.254  | 3.684  | 0.00226 |       |       |
| <b>Var. Résiduelle 1</b>               | 381.750  | 45  | 8.483   |        |         | 2.913 | 7.94% |

Le test de **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, classe le facteur dose dans 4 groupes homogènes (a, ab, b et c). Le groupe c contient la dose 100µl qui engendre un nombre moyen d'adultes émergés le plus faible ( $24,417 \pm 4,208$ ). Le lot témoin appartient au groupe a avec un effectif de descendants de  $42,000 \pm 0,879$  (**Tableau 3.7**).

**Tableau 3.7:** Résultats du test **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'acide oléique (AO), suivant le facteur dose, sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

| F1         | Libelles | Moyennes     | Groupes Homogènes |
|------------|----------|--------------|-------------------|
| <b>2.0</b> | 0.0 µl   | 42.000±0.879 | a                 |
| <b>1.0</b> | 25 µl    | 40.917±1.422 | a                 |
| <b>3.0</b> | 50 µl    | 39.167±1.966 | ab                |
| <b>4.0</b> | 75 µl    | 36.917±3.216 | b                 |
| <b>5.0</b> | 100 µl   | 24.417±4.208 | c                 |

Pour le facteur 2 (stade larvaire), le test classe les résultats en 2 groupes homogènes a et b, les larves de premier stade sont plus sensibles au traitement que les larves plus âgées (L3 et L4) (**Tableau 3.8**).

**Tableau 3.8:** Résultats du test **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'acide oléique (**AO**) suivant le stade larvaire traité, sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

| F2  | Libelles | Moyennes     | Groupes Homogènes |
|-----|----------|--------------|-------------------|
| 3.0 | L4       | 38.150±3.078 | a                 |
| 2.0 | L3       | 37.500±1.732 | a                 |
| 1.0 | L1       | 34.400±2.760 | b                 |

Concernant l'interaction entre les deux facteurs, l'analyse dévoile l'existence de six groupes homogènes (a, ab, b, c, d et e). Le groupe e comprend le nombre moyen d'adultes émergés le plus faible qui est de  $18,250 \pm 5,123$ . Les **L1** sont plus sensibles au traitement à l'acide oléique que les **L3** et les **L4** et ceci quelque soit la dose utilisée (**Tableau 3.9**).

**Tableau 3.9:** Résultats du test **NEWMAN** et **KEULS**, au seuil de 5%, concernant l'effet de l'acide oléique (**AO**) suivant l'interaction dose-stade larvaire sur la viabilité post embryonnaire de *C. maculatus*

| F1*F2   | Libelles | Moyennes    | Groupes Homogènes |
|---------|----------|-------------|-------------------|
| 2.0*3.0 | 25µl*L4  | 43.50±0.577 | a                 |
| 2.0*2.0 | 25µl*L3  | 42.25±0.957 | a                 |
| 1.0*2.0 | 0.0µl*L3 | 42.25±0.957 | a                 |
| 1.0*1.0 | 0.0µl*L1 | 41.75±1.258 | a                 |
| 3.0*3.0 | 50µl*L4  | 41.50±1.732 | a                 |
| 2.0*1.0 | 25µl*L1  | 40.25±1.258 | ab                |
| 4.0*2.0 | 75µl*L3  | 39.25±2.986 | ab                |
| 1.0*3.0 | 0.0µl*L4 | 38.75±2.217 | ab                |
| 3.0*2.0 | 50µl*L3  | 38.75±1.893 | ab                |
| 3.0*1.0 | 50µl*L1  | 37.25±2.754 | ab                |
| 4.0*3.0 | 75µl*L4  | 37.00±2.449 | ab                |
| 4.0*1.0 | 75µl*L1  | 34.50±4.796 | b                 |
| 5.0*3.0 | 100µl*L4 | 30.00±5.831 | c                 |
| 5.0*2.0 | 100µl*L3 | 25.00±2.160 | d                 |
| 5.0*1.0 | 100µl*L1 | 18.25±5.123 | e                 |

### c) Effets de l'huile d'olive et de l'acide oléique

D'après les résultats obtenus, la viabilité post embryonnaire est élevée dans les lots témoins, elle varie de 77,5% à 85%. Par contre, en présence de l'huile d'olive et de l'acide oléique, le développement des différents stades larvaires est sérieusement affecté. L'effet des traitements varie selon le stade de développement visé, les larves **L1** semblent plus sensibles que les **L3** et les **L4**. Les deux substances testées se sont révélées très toxiques à l'égard des larves de *C. maculatus*, du fait d'une diminution très significative du nombre d'adultes émergés. Les doses 400µl d'huile d'olive (**HO**) et 100µl d'acide oléique (**AO**) sont les plus efficaces et ce quelque soit le stade larvaire traité.

Les jeunes larves sont localisées dans des galeries périphériques, au voisinage du tégument traité, contrairement aux larves âgées qui s'enfoncent plus profondément dans la graine (**NYAMADOR et al., 2010**). Le traitement peut en effet diffuser à travers la cuticule ou les stigmates respiratoires provoquant l'asphyxie de la larve. **MUSHOBOZY et al. (2009)** ont rapporté que les acides gras insaturés, présents abondamment dans les huiles de palme et de ricin, pénètrent dans la testa (tégument) et s'accumuleraient dans les cotylédons de la graine du haricot commun (*Phaseolus vulgaris*) et développeraient un effet larvicide à l'égard de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera : Bruchidae).

La viabilité post embryonnaire diminue au fur et à mesure que la dose du traitement augmente. Cette diminution est très prononcée chez les stades larvaires **L1** et **L3**. Les larves **L4** semblent moins sensibles. Mais, cette faible sensibilité à ces traitements peut trouver une explication dans la diffusivité plus lente des substances à travers les graines, et l'exosquelette de la **L4** est aussi plus résistant. En utilisant les huiles essentielles, certains auteurs ont rapporté cette tendance, ils ont montré que le tégument et les cotylédons des graines de niébé constituent une barrière mécanique qui freinerait la pénétration des vapeurs à l'intérieur des graines (**REGNAULT-ROGER et al., 2002**; **JOHNSON et al., 2006** et **HEDJAL-CHEBHEB, 2014**). **REGNAULT-ROGER et al. (2002)** et **NYAMADOR et al. (2010)** rajoutent que l'exposition des individus intra-granaires, notamment les **L4** aux vapeurs des huiles essentielles provoquerait chez ces dernières l'activation du système de défense de type enzymatique pour la détoxification par le Glutathion-S-Transférase (**GST**) susceptible d'accroître la résistance des larves.

### d) Conclusion

L'huile d'olive et son principal constituant, l'acide oléique, ont montré un potentiel larvicide intéressant sur les larves de *C. maculatus* évoluant à l'intérieur des graines de niébé. En effet, ces deux produits ont affecté la viabilité post embryonnaire de la

bruche et ce quelque soit le stade larvaire ciblé. Quand les traitements sont appliqués sur les stades **L1** et **L3**, les larves n'arborent qu'une légère résistance au point où le nombre d'adultes émergés diminuerait significativement, particulièrement à fortes doses. Au vu des résultats obtenus, ces deux substances pourraient donc constituer des bio-pesticides à envisager pour les grains infestés dans les entrepôts de stockage.

## 3.2- IMPACT DES TRAITEMENTS SUR LES GRAINES DE NIEBE

### 3.2.1 Pertes en poids et faculté germinative

L'analyse des données correspondant aux deux variables mesurées a dévoilé qu'aucune d'elles ne suit une loi normale. Cela est d'ailleurs soutenu par le test d'hypothèse de **Shapiro-Wilks** qui donne les p-values ne dépassant guère le seuil de 5% (**Tableau 3.10**). Le choix d'utiliser le test non paramétrique de **Kruskal-Wallis** est alors approuvé (**DAGNELIE, 1975**).

**Tableau 3.10:** Test de Shapiro Wilks (Paramètres agronomiques)

| Variable        | p-value         | Décision      |
|-----------------|-----------------|---------------|
| Pertes en poids | 1.009 $10^{-8}$ | Non-normalité |
| Germination     | 1.381 $10^{-9}$ | Non-normalité |

#### a) Pertes en poids

Les pertes en poids des graines de niébé sont exprimées en %, le boxplot pertes en poids-type de traitement (**Figure 3.14**) montre que tous les traitements les réduisent de façon significative ( $p\text{-value} = 1,163 \cdot 10^{-7}$ ), elles sont causées par les larves de la première génération. Les pertes en poids des graines de *V. unguiculata* sont presque nulles, en effet, elles concernent les graines traitées avec de l'huile d'olive, l'acide oléique, l'acide linoléique, le mélange des acides gras et à un degré moindre l'acide stéarique et l'acide palmitique. Mais en analysant les résultats, nous constatons que le facteur dose est prépondérant dans tous les traitements, ce qui est d'ailleurs traduit par la valeur de p-value ( $9,265 \cdot 10^{-4}$ ) voisine de zéro. Les traitements avec l'huile d'olive (à partir de la dose 200 $\mu$ l), l'acide oléique (100  $\mu$ l), l'acide linoléique (125 $\mu$ l) et le mélange des acides gras (100  $\mu$ l), protègent totalement les graines des pertes en poids (0%). Il est à noter que dans les graines traitées avec l'acide stéarique et l'acide palmitique, à des doses élevées (respectivement 50mg/ml et 320mg/ml), les larves de

la première génération provoquent des pertes allant de 5 à 7%, celles-ci restent assez faibles, comparativement à celles subies par les graines non traitées (27,5%).

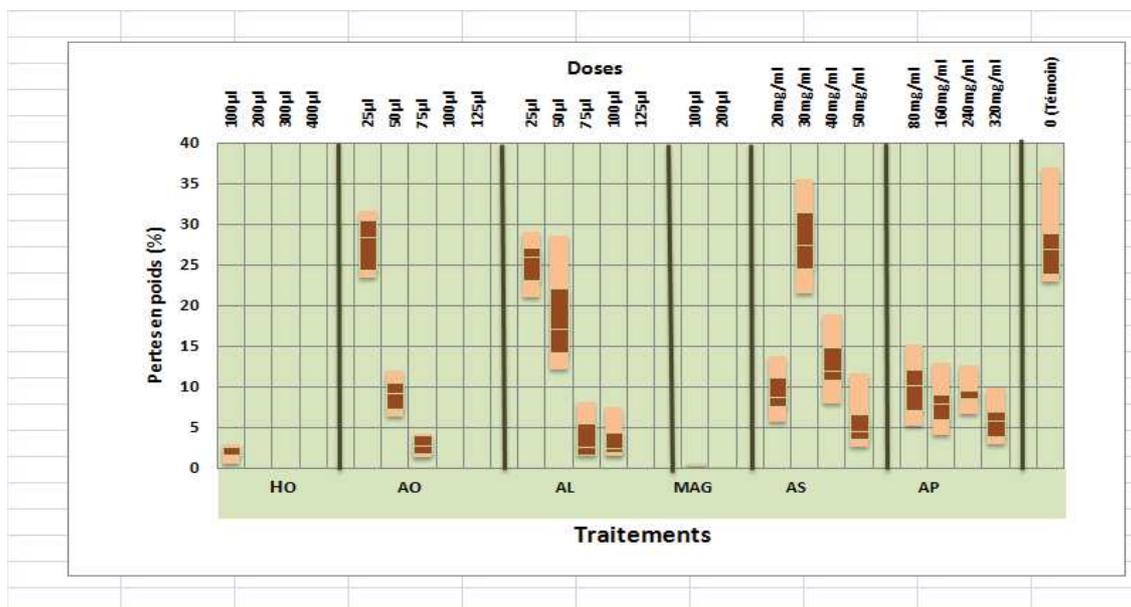


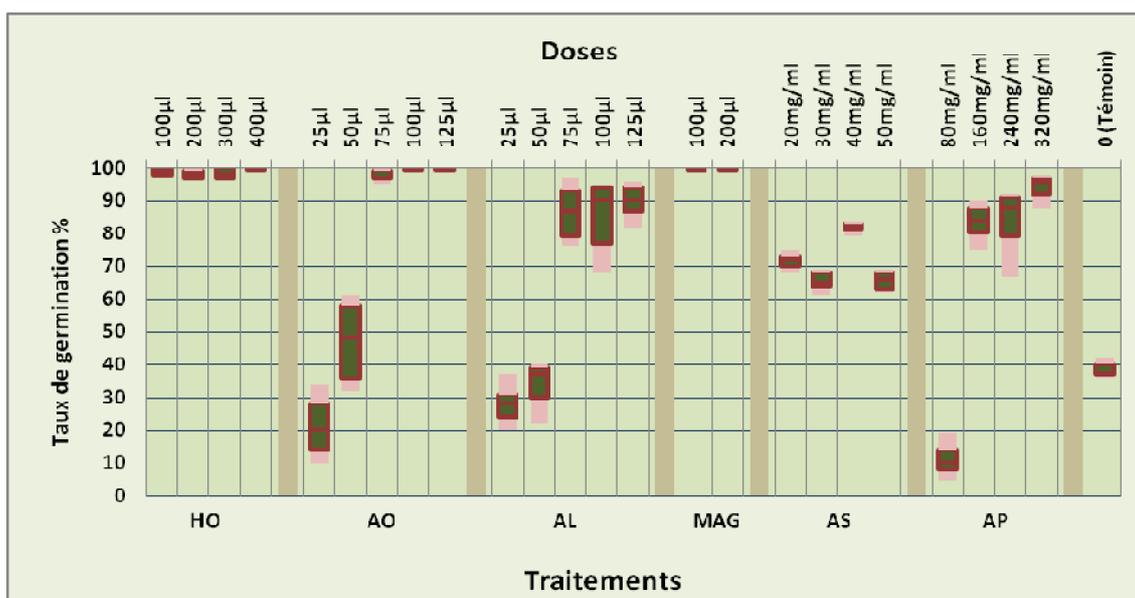
Figure 3.14: Pertes en poids (%) en fonction du type de traitement

Ces résultats sont en accord avec ceux de **HOSSAIN et al. (2014)** qui ont signalé que les huiles de neem, castor, sésame et karanja, à la dose 4 ml/kg, permettent une protection totale des graines de pois chiche. Un traitement à base d'huile de palme, à raison de 5ml/kg de niébé, a manifesté une action protectrice importante dans la préservation du poids des graines à l'égard des attaques de *C. maculatus*. Il a permis, en effet de réduire à moins de 4,5% le taux de destruction des graines après trois mois de stockage (**MUKENDI et al., 2013**). Pour **AHMED et al. (1988)**, les graines de *Vigna radiata* traitées avec les huiles de moutarde et d'olive sont préservées presque totalement et ce après quatre mois d'entreposage.

#### b) Faculté germinative des graines traitées

Le boxplot taux de germination-type de traitement (**Figure 3.15**) révèle que tous les traitements ont un effet très hautement significatif ( $p\text{-value} = 1,301 \cdot 10^{-4}$ ) sur la préservation de la capacité germinative des graines de *V. unguiculata*. Un taux de germination de l'ordre de 100% est observé pour les grains traités avec l'huile d'olive et avec le mélange des 4 acides gras. Dans le reste des traitements, la faculté germinative est en revanche affectée avec des taux variant de 10 à 90%.

L'observation des résultats (**Figure 3.15**) montre que la dose agit d'une manière très hautement significative sur le pouvoir germinatif des graines traitées puisque la p-value est de  $1,432 \cdot 10^{-14}$ . Les traitements avec l'huile d'olive et avec le mélange des 4 acides gras assurent une germination totale (100%) des graines et ce quelque soit le dosage utilisé. Avec les acides linoléique et oléique, des taux de germination allant de 86 à 100% sont également enregistrés à partir de la dose 75  $\mu$ l/25g, comparativement au témoin infesté (38%). La perte de la faculté germinative du lot témoin est en grande partie attribuée à la forte infestation par la bruche.



**Figure 3.15:** Taux de germination (%) en fonction du type de traitement

La préservation de la viabilité germinative, observée chez les graines traitées avec de l'huile d'olive, est un résultat qui corrobore ceux obtenus avec d'autres huiles végétales par certains auteurs tels que **KELLOUCHE et al. (2004)**, **BAMAIYI et al. (2006)**, **UDO (2011)** sur le niébé, **MUSHOBOZY et al. (2009)** sur l'haricot commun et **IBRAHIM (2012)** et **HOSSAIN et al. (2014)** sur le pois chiche. Néanmoins, **CARDET et al. (1998)** ont signalé que l'huile d'arachide, même si elle présentait un potentiel phytosanitaire permettant de protéger les graines d'*Acacia nilotica* et d'*Acacia raddiana* (Fabaceae), affecte sérieusement leur pouvoir germinatif. Cette chute du potentiel germinatif est expliquée par la présence en abondance de lipides insaturés dans les huiles d'arachide qui s'accumuleraient dans les cotylédons et perturberaient le développement de l'embryon du spermatophyte. En 1981, **YUN TAI** et **BURKHOLDER** avaient déjà noté que des traitements à base d'huiles végétales (coton, soja, maïs et arachide) affectent la germination des graines de blé.

### 3.2.2 Valeur nutritive des graines traitées

#### a) Indice de peroxyde

La valeur de l'indice de peroxyde obtenue est conforme à la norme internationale (COI, 2015) ( $\leq 20\text{meq O}_2/\text{kg}$ ) (Tableau 3.11). Ce résultat reste constant durant une période de conservation allant jusqu'à 3 mois (moins de  $13\text{meq O}_2/\text{kg}$ ).

L'IP nous renseigne sur le degré d'oxydation d'un corps gras par formation des composés primaires (peroxydes et hydro-peroxydes) et des composés secondaires volatils ou non (cétones, aldéhydes). Ce phénomène d'oxydation constitue le problème majeur des corps gras, il déprécie leur qualité et diminue leur valeur marchande. SEKOUR (2012) a rapporté que les processus de dégradation des lipides sont liés aux conditions de cueillette, de récolte, de conservation des olives (température et lumière) et au mode d'extraction de l'huile.

**Tableau 3.11:** Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile d'olive testée dans le temps

| N<br>(Nbre d'échantillons) | Date        | IP (meq d' O <sub>2</sub> /kg<br>d'huile) | Norme Internationale               |
|----------------------------|-------------|---|------------------------------------|
| 3                          | À t = 0     | 12.00 ± 0,03                              | ≤ 20meq d'O <sub>2</sub> actif/ kg |
| 3                          | À t = 1mois | 11.98 ± 0,27                              | ≤ 20meq d'O <sub>2</sub> actif/ kg |
| 3                          | À t = 2mois | 12.78 ± 0,18                              | ≤ 20meq d'O <sub>2</sub> actif/ kg |
| 3                          | À t = 3mois | 12.35 ± 0,27                              | ≤ 20meq d'O <sub>2</sub> actif/ kg |

#### b) Caractéristiques nutritionnelles des graines traitées et non traitées

La composition nutritionnelle des graines de niébé (traitées à l'huile d'olive et non traitées) a été déterminée sur des échantillons conservés pendant une période de trois mois. Les résultats obtenus sont consignés dans le **Tableau 3.12**.

Les données recueillies sur des graines de niébé (traitées à l'huile d'olive et non traitées) ont été analysées en utilisant le langage R. La comparaison des moyennes a été effectuée par le test de Student. Les différences sont significatives lorsque  $P < 0.05$ . Les résultats obtenus sur les teneurs en protéines, en glucides et en cendres indiquent qu'il n'y a pas de différences notables entre les graines ayant subi le traitement à l'huile d'olive et les graines des lots témoins. En revanche, les résultats des teneurs en

matières grasses, des valeurs énergétiques et des teneurs en eau révèlent des différences significatives pour les lipides et les valeurs énergétiques et des différences très hautement significative pour l'humidité.

**Tableau 3.12:** Composition nutritionnelle des graines de niébé saines et traitées à l'huile d'olive après 3 mois de conservation

| Paramètres                     | N | Graines saines | Graines traitées |
|--------------------------------|---|----------------|------------------|
| Matières grasses %             | 2 | 4.39 ± 0.63    | 4.97 ± 0.58      |
| Protéines %                    | 2 | 22.94 ± 0.82   | 23.62 ± 0.73     |
| Cendres %                      | 2 | 3.61 ± 0.32    | 3.64 ± 0.28      |
| Humidité %                     | 2 | 11.12 ± 0.78   | 10.42 ± 0.85     |
| Glucides %                     | 2 | 57.36 ± 1.23   | 57.93 ± 1.54     |
| Valeur énergétique (kcal/100g) | 2 | 365.93         | 365.71           |

La caractérisation biochimique de tous les échantillons de niébé a révélé que les graines conservées pendant trois mois sont riches en protéines avec des taux de 22,94% (lots non traités) et 23,62% (lots traités). Les teneurs obtenues sont comparables à celles de **MEBDOUA (2011)** observées sur six variétés de niébé cultivées localement, en Algérie. Ces taux élevés confirment bien la richesse des légumineuses en protéines. Selon **ALZOUMA (1995)**, le taux de protéines des légumineuses, notamment le niébé, se situe bien entre 20 et 25%, avec des variations de teneur qui pourraient être liées à la nature des sols, aux variétés cultivées et aux types de traitements réservés aux cultures (utilisation d'engrais, rotations,...). De plus, ces résultats révèlent l'absence d'impact du traitement à l'huile d'olive sur la teneur en protéines des graines sur une période de conservation de trois mois ( $p\text{-value} = 5,059 \cdot 10^{-2}$ ).

Le même commentaire peut être porté sur les teneurs en glucides ( $p\text{-value} = 6,783 \cdot 10^{-2}$ ) avec des valeurs de 57,36% (lots non traités) et 57,93% (lots traités). Ces proportions se rapprochent d'ailleurs de celles de **MEBDOUA (2011)** qui a obtenu des teneurs en glucides variant de 52,88% à 59,03% avec six variétés de niébé analysées. Ces glucides sont principalement concentrés sous forme d'amidon au niveau de l'endosperme (graines) en association avec des protéines de réserve (**HUANG et al., 2007**). Pour les matières grasses, elles sont présentes dans les lots traités et non traités

avec des valeurs variant de 4,4% à 5%, comme pour la plupart des légumineuses. Ces valeurs sont proches de celles rapportées par **KOKO et al. (2016)**. La comparaison des moyennes (test de Student) a révélé un effet significatif du traitement sur la teneur en lipides des graines ( $p\text{-value} = 3,286 \cdot 10^{-2}$ ).

La valeur énergétique de la plupart des légumineuses (pour 100 g de graines) est généralement comprise entre 300 et 540 kcals. Cette énergie est très souvent indispensable pour tous les processus métaboliques. Elle provient essentiellement de l'apport des protéines, des lipides et des glucides (**DIALLO KOFFI et al., 2015**). Les valeurs enregistrées avec les graines de niébé utilisées dans cette étude sont de l'ordre de 365 kcals (lots traités ou non traités), ce qui illustre la bonne qualité de la légumineuse. Cette qualité n'est nullement affectée par le traitement utilisée.

En outre, les graines de niébé contiennent des taux de cendres dont la teneur est sensiblement la même pour les graines saines (3,61%) et les graines traitées (3,64%). Les graines étudiées ont des concentrations statistiquement identiques ( $p\text{-value} = 3,499 \cdot 10^{-1}$ ). Ces valeurs sont très proches de celles rapportées par **MEBDOUA (2011)** qui a obtenu des teneurs comprises entre 3,41% et 3,97% sur des graines locales. En revanche, **HOUINSOU et al. (2014)** ont trouvé des valeurs de l'ordre de 4,17% à 4,71%, traduisant leur richesse en éléments minéraux. Il est également relevé une humidité moyenne de 11,12% chez les graines saines et 10,42% chez les graines traitées. Un effet teneur en eau hautement significatif existe entre les graines traitées et celles non traitées ( $p\text{-value} = 1,629 \cdot 10^{-3}$ ). Les teneurs en eau obtenues correspondent à la norme requise pour le stockage des graines (10 à 11%) (**BORGET, 1989**). De faibles teneurs en eau présentent des avantages sur la durée de stockage en permettant une bonne conservation par l'inhibition du développement microbien, le blocage ou le ralentissement des réactions d'oxydation et enzymatique, source de détérioration des graines (**COMELADE, 1990**).

Au vu des indicateurs de qualité étudiés, la graine traitée avec de l'huile d'olive et conservée pendant 3 mois conserve ses qualités nutritives. Ainsi, l'huile d'olive est un produit qui peut être proposé comme bio insecticide pour protéger les graines de niébé. Elle pourrait constituer une alternative efficace, aux produits de synthèse, dans la conservation de cette légumineuse qu'il faut confirmer avec d'autres investigations plus approfondies.

### 3.3- REMANENCE DES TRAITEMENTS

La rémanence est la propriété d'un produit phytosanitaire à rester efficace dans le temps après son application. Une rémanence longue réduit en effet les risques de ré-infestation en provenance de l'extérieur ou par une nouvelle génération après utilisation de la substance contre les parents du ravageur.

Dans cette partie, la rémanence de l'huile d'olive et de l'acide oléique a été examinée. L'huile d'olive et l'acide oléique ont été sélectionnés comme étant les bio-pesticides efficaces, aux doses respectives de 400µl et 125µl, dans notre investigation. A cet effet, le potentiel insecticide de ces produits aux doses appropriées a été évalué sur des périodes allant de 1 à 9 mois après leurs applications.

#### 3.3.1 Rémanence de l'huile d'olive et de l'acide oléique à l'égard de *C. maculatus*

L'examen des données correspondant aux cinq variables (longévité, fécondité, éclosion, descendance et germination) ne suivent pas une loi gaussienne. De plus, cela est soutenu par l'hypothèse de **Shapiro Wilks** (Tableau 3.13). En raison de l'absence de normalité, le test non paramétrique de **Kruskall-Wallis** a été choisi.

**Tableau 3.13:** Test de Shapiro Wilks (Rémanence des traitements)

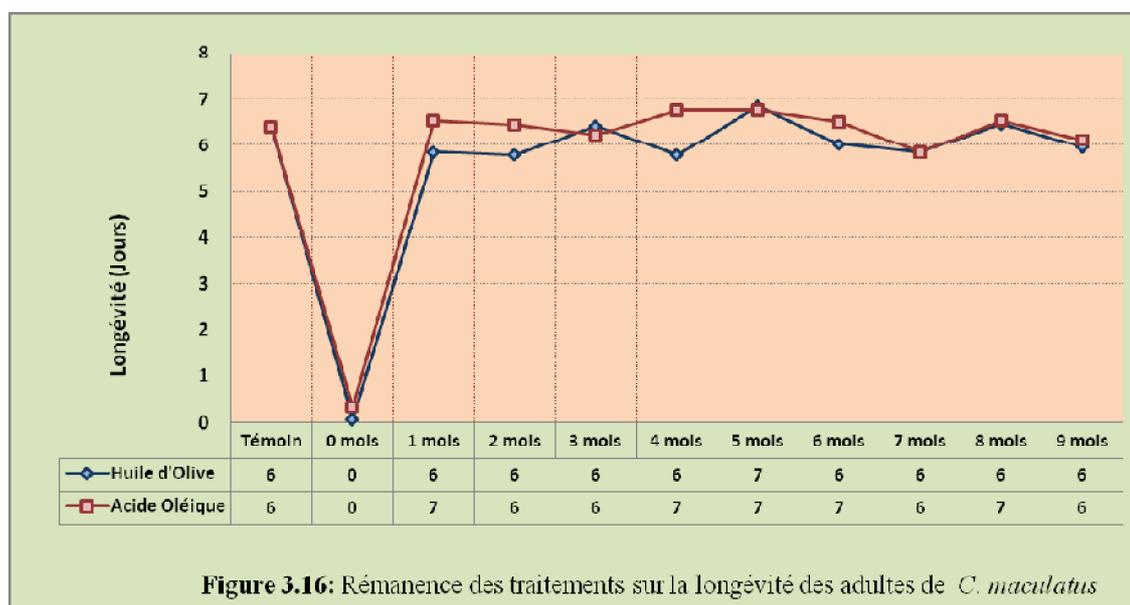
| Variable    | p-value                | Décision      |
|-------------|------------------------|---------------|
| Longévité   | $2.290 \cdot 10^{-13}$ | Non-normalité |
| Fécondité   | $4.861 \cdot 10^{-5}$  | Non-normalité |
| Eclosion    | $1.713 \cdot 10^{-3}$  | Non-normalité |
| Descendance | $1.548 \cdot 10^{-11}$ | Non-normalité |
| Germination | $1.640 \cdot 10^{-9}$  | Non-normalité |

##### a) Sur la longévité

L'analyse de la variance a révélé une influence significative, au seuil de 5%, du traitement et de sa durée (avant infestation) sur la longévité de *C. maculatus* (p-value =  $4,277 \cdot 10^{-3}$ ).

La **Figure 3.16** révèle que les traitements préalables des graines avec l'huile d'olive et l'acide oléique réduisent de façon hautement significative la longévité des bruches adultes, qui vivent en effet moins de 24 heures (groupe b). Par contre, l'efficacité de ces traitements a considérablement diminué à partir du 1<sup>er</sup> mois après leurs

applications. Cette inefficacité persiste sur toutes les autres périodes d'infestation et ce jusqu'au 9<sup>ème</sup> mois (groupes a et ab), la longévité des adultes atteint environ 6 jours, une valeur très proche de celle du témoin (sans traitement) (Voire **Annexe V**).



**Figure 3.16:** Rémanence des traitements sur la longévité des adultes de *C. maculatus*

### b) Sur la fécondité

Les deux substances (huile d'olive et acide oléique) réduisent de façon très hautement significative la fécondité des femelles de *C. maculatus*. Ceci est d'ailleurs approuvé par le test Kruskal-Wallis avec  $p\text{-value} = 1,034 \cdot 10^{-4}$ .

La **Figure 3.17** montre l'évolution de la fécondité moyenne des adultes (5 femelles) de *C. maculatus* en fonction de la période après traitement des graines exposées. La fécondité des femelles mises en contact avec des graines fraîchement traitées (à l'instant initial) est très affectée avec une inhibition totale des pontes (groupe c). Même si l'oviposition a repris quelque peu chez les femelles placées sur des graines traitées depuis 1 à 9 mois, la fécondité des bruches reste tout même affectée par les traitements préalables comparativement aux témoins (372,75) (groupe a). Au 1<sup>er</sup> mois, le nombre d'œufs pondus par les femelles de *C. maculatus* atteint 205,75 (groupe abc) et 275 (groupe ab) sur les graines traitées avec l'huile d'olive et l'acide oléique, respectivement (Voire **Annexe VI**).

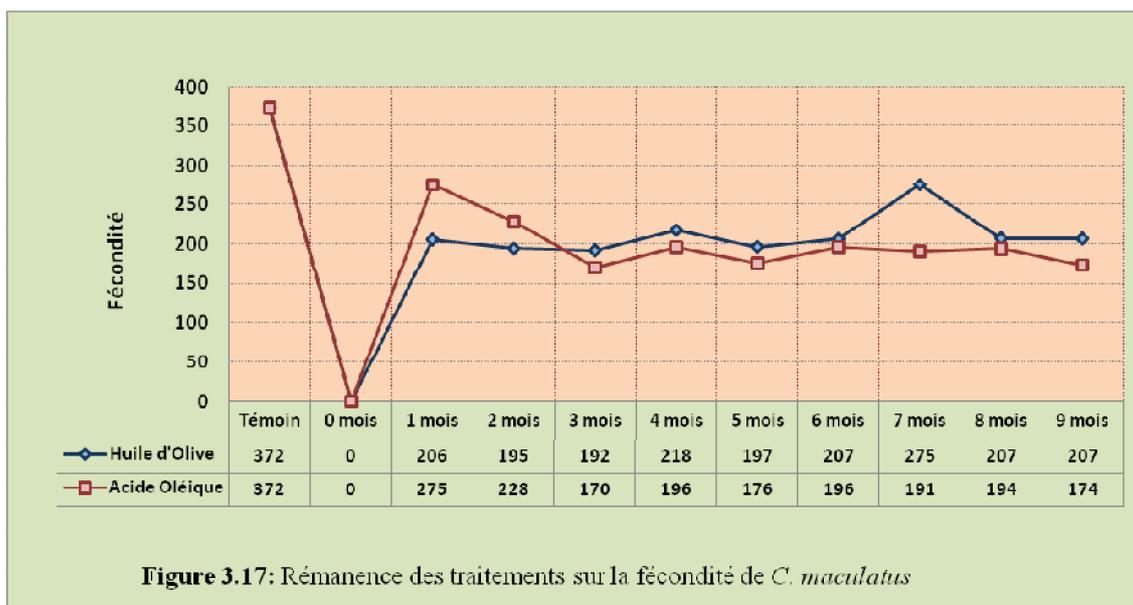


Figure 3.17: Rémanence des traitements sur la fécondité de *C. maculatus*

c) Sur le taux d'éclosion (taux de survie embryonnaire)

Les résultats (Figure 3.18) montrent que les facteurs traitements et durée de traitement agissent d'une manière très significative sur le nombre d'œufs éclos. Ceci est approuvé par le test Kruskal –Wallis avec une p-value =  $1,271 \cdot 10^{-7}$ .

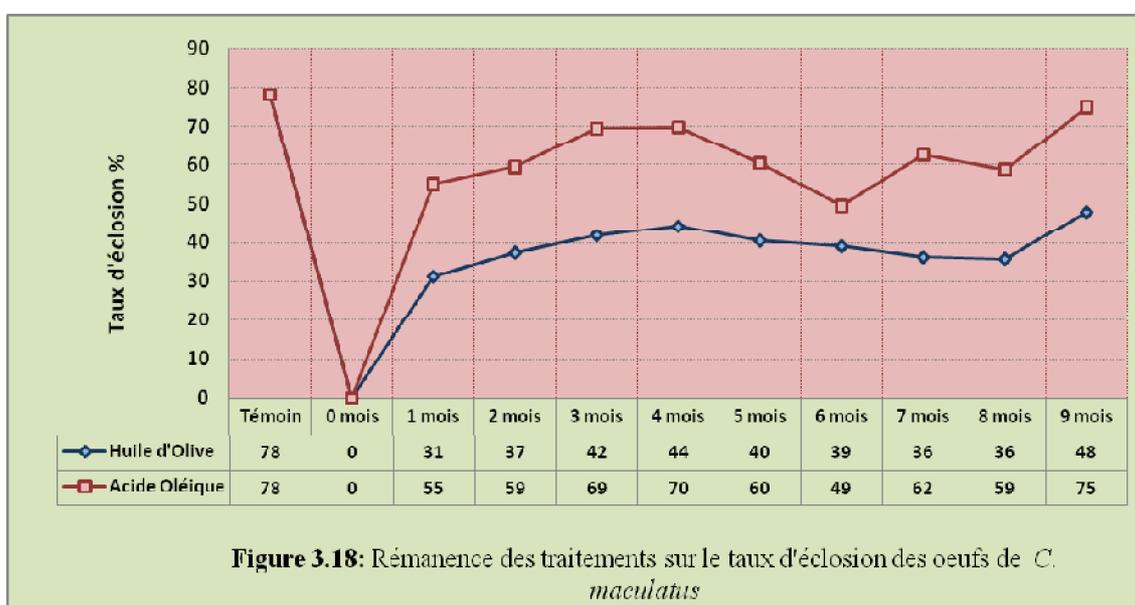


Figure 3.18: Rémanence des traitements sur le taux d'éclosion des oeufs de *C. maculatus*

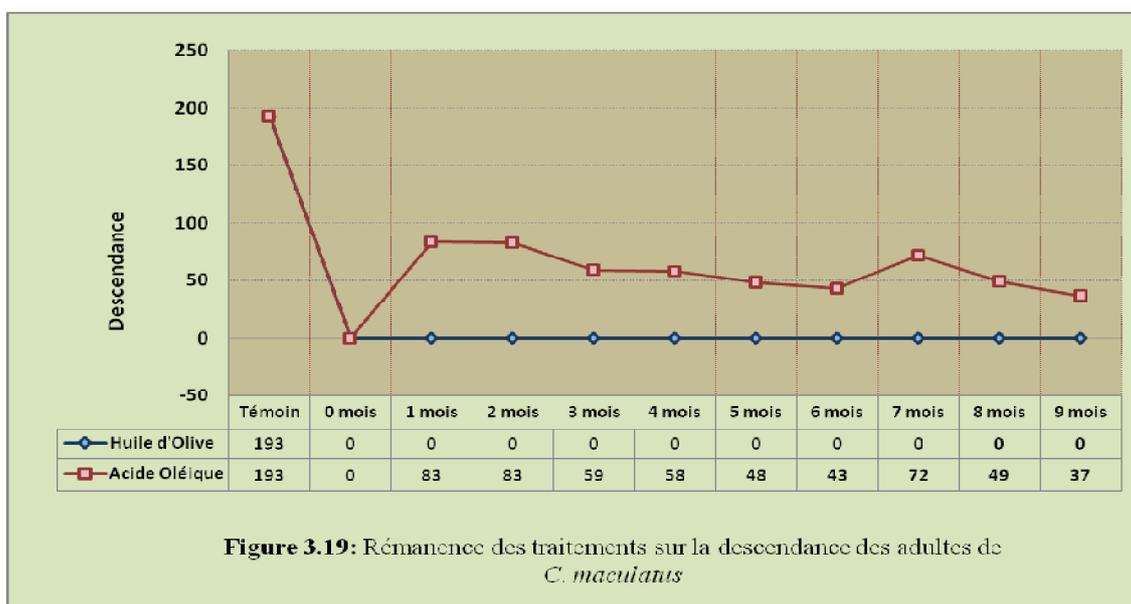
En effet, comme le montre la Figure 3.18, les 2 substances testées réduisent très significativement, voire annulent (0 mois), le taux d'éclosion des œufs de *C. maculatus* pondus sur des graines traitées récemment (groupe i). Une faible survie

embryonnaire a été tout de même observée sur les graines ayant subi des traitements à l'huile d'olive (jusqu'à 9 mois) avec un taux d'éclosion de l'ordre de 35%, un taux qui reste en dessous des 78% du lot témoin (groupe a). Par contre, dans les lots traités avec l'acide oléique, les taux de survie embryonnaire sont plus élevés, 75% au 9<sup>ème</sup> mois après traitement (groupe ab) (Annexe VII).

**d) Sur la descendance**

L'analyse de la variance montre une différence d'activité très hautement significative pour l'interaction entre les deux facteurs (traitement et temps) sur le nombre de descendants de *C. maculatus* (p-value =  $6,985 \cdot 10^{-10}$ ).

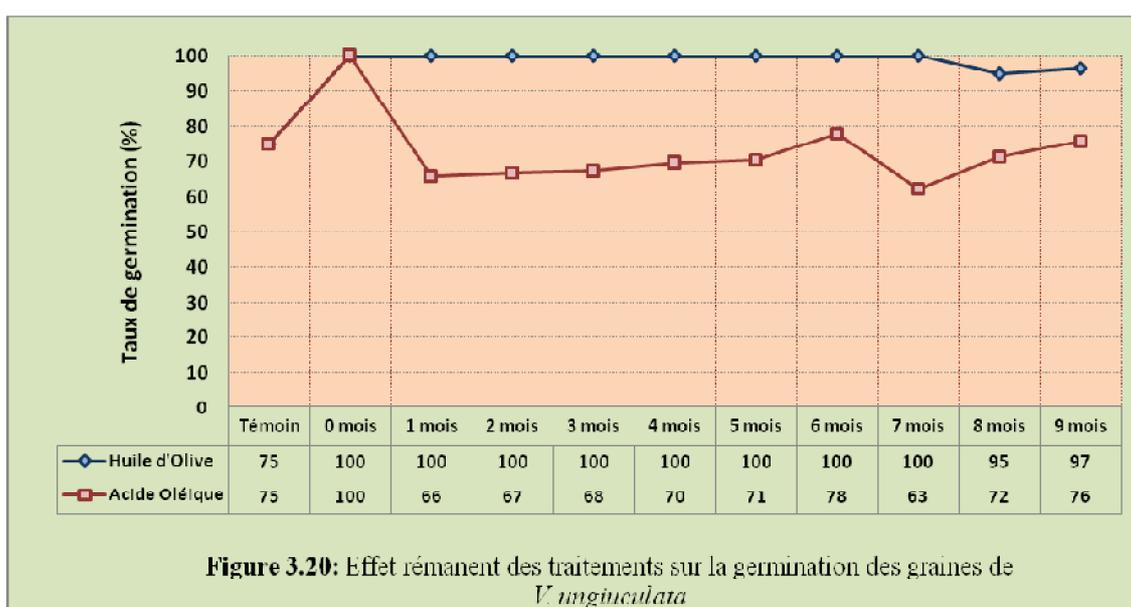
La Figure 3.19 montre qu'aucune descendance de la population F1 n'est observée ou enregistrée dans les lots traités à l'huile d'olive et ce quelque soit la période où les bruches étaient mises en contact avec les graines. Cette efficacité se traduit par une inhibition totale de l'émergence d'une nouvelle génération de *C. maculatus*, et elle persiste sur une durée de traitement pouvant aller jusqu'à 9 mois (groupe f). Dans les lots traités à l'acide oléique, la descendance reste faible avec des effectifs variant de 40 à 80 adultes (192,75 dans le lot témoin appartenant au groupe a). La plus faible descendance est enregistrée au 9<sup>ème</sup> mois (groupe e) (Annexe VIII).



### 3.3.2 Effet rémanent de l'huile d'olive et de l'acide oléique sur la germination des graines de niébé

Il apparaît une différence très significative entre le taux de germination des graines traitées avec l'huile d'olive et l'acide oléique selon les temps écoulés après traitement et celui des graines des lots témoins ( $p\text{-value} = 8,529 \cdot 10^{-9}$ ).

Lorsque les graines de *V. unguiculata* sont soumises à un traitement récent, à l'huile d'olive et à l'acide oléique, leur faculté germinative est préservée (groupe a). Avec l'huile d'olive, le pouvoir germinatif des graines est maintenu même quand le temps après traitement des graines est de 1 mois, 2 mois, et ce jusqu'à 9 mois (groupes a et ab). Après 1 mois de traitement, à l'acide oléique, et au-delà (groupes bc, cd et d), les graines de niébé perdent par contre environ 34% de leur potentiel germinatif, une perte qui dépasse même celle du lot témoin (25%) (**Figure 3.20**). Dans l'**Annexe IX** sont consignés les groupes homogènes relatifs à l'interaction des deux facteurs.



### 3.3.3 Discussion des résultats des tests de rémanence

L'huile d'olive et l'acide oléique ont révélé, de manière très significative, leur effet insecticide sur des graines fraîchement traitées. En effet, la longévité des adultes, la fécondité des femelles, le taux d'éclosion des œufs et la descendance de *C. maculatus* sont très affectés aux doses de 400µl pour l'huile d'olive et 125µl pour l'acide oléique. De plus, ces substances confèrent sur une courte durée une préservation totale de la faculté germinative des graines.

L'efficacité de ces deux traitements diminue dans le temps sur l'ensemble des paramètres évalués, à l'exception du facteur descendance de la bruche. Le taux de survie post embryonnaire devient nul même sur des graines traitées à l'huile d'olive (HO) depuis une durée allant de 1 à 9 mois avant d'être infestées. Il faut également signaler que pour les traitements à base d'acide oléique (AO), les effectifs des adultes émergents demeurent faibles.

Il est aussi important de noter que même si le taux de survie embryonnaire, enregistré dans les lots traités avec l'huile d'olive et l'acide oléique (1 à 9 mois), remonte quelque peu, l'huile d'olive provoque une mortalité larvaire de 100%. Cette activité larvicide de l'huile d'olive pourrait trouver une explication dans le fait que la larve reste en contact étroit avec les parois ointes de sa galerie. De plus, le potentiel germinatif des graines de *V. unguiculata* est préservé totalement même au 9<sup>ème</sup> mois après traitement avec l'huile d'olive (400 µl).

Les effets rémanents de l'huile d'olive observés sont similaires à ceux rapportés par d'autres auteurs tels que **KELLOUCHE et al. (2004)** qui ont montré que les huiles d'olive et d'oléastre protègent complètement les graines de niébé durant une période pouvant aller jusqu'à 9 mois. L'activité insecticide des huiles de palme et de coco persiste également pendant 5 mois selon **OSEKRE et AYERTEY (2002)**. Les données relatives à la rémanence de l'effet insecticide des différents constituants chimiques des huiles végétales sont rares, voire quasi inexistantes dans la littérature. Mais certains auteurs, comme **KELLOUCHE et al. (2004)**, **MUSHOBOZY et al. (2009)**, **MUSTAFA et ALI (2011)**, **UDO (2011)** et **ABDULLAHI et al. (2011)** lient cet effet persistant à l'action de certains acides gras qui se fixeraient sur la surface de la graine, incommodant ainsi tout le processus de reproduction.

Par contre, les résultats obtenus dans notre investigation avec l'acide oléique montrent que l'effet rémanent de ce produit est relativement très limité. Mais avec l'huile d'olive, une protection plus ou moins durable des graines de niébé contre *C. maculatus* est tout à fait possible. C'est donc plus l'action synergique ou même complémentaire des différents constituants de l'huile testée qui serait à l'origine de la persistance de cette activité insecticide.

## **CONCLUSION GENERALE**

---

## CONCLUSION GENERALE

---

Le niébé constitue la source principale de protéines accessibles pour les populations des régions pauvres d'Afrique et de certains pays en voie de développement. Et aujourd'hui, il est présenté comme étant l'une des meilleures et des moins onéreuses solutions qui peut contribuer de manière significative à la sécurité alimentaire mondiale. Le niébé est malheureusement infesté par des insectes nuisibles pouvant porter préjudice à sa culture et à la qualité nutritive de ses graines durant le stockage. Le plus redoutable de ces bio-agresseurs est sans aucun doute *C. maculatus*, la bruche du niébé. La difficulté à maîtriser les populations de ce ravageur est amplifiée par les limites et les conséquences sanitaires et environnementales liées à l'utilisation courante de pesticides de synthèse.

Pour pouvoir proposer aux consommateurs des aliments de bonne qualité et sans traces de pesticides, il est indispensable de rechercher des méthodes alternatives, voire même traditionnelles, non chimiques et surtout respectueuses de l'environnement. Cette étude s'inscrit dans cette optique en proposant l'huile d'olive comme bio-pesticide d'origine végétale répondant à cet impératif. Elle est également une opportunité pour revisiter les vertus insecticides de l'huile d'olive, connues depuis fort longtemps, à l'égard de la bruche du niébé et d'autres insectes ravageurs.

Les résultats obtenus dans les tests par contact ont permis de confirmer l'activité insecticide des traitements avec l'huile d'olive et des principaux acides gras qu'elle contient, notamment l'acide oléique et l'acide linoléique, en affectant l'ensemble des paramètres biologiques du modèle biologique utilisé, *C. maculatus*. En effet, aux doses de 400 $\mu$ l/25g d'huile d'olive et 125  $\mu$ l/25g d'acide oléique ou d'acide linoléique, les

bruches adultes vivent moins de 24 heures, empêchant ainsi les femelles de pondre, et aucune émergence n'avait été enregistrée. La réduction de la durée de vie des adultes est vraisemblablement due à la toxicité par contact de ces traitements. Les traitements de contact sur les bruches adultes induisent la formation d'un film d'huile qui obture aussi les orifices respiratoires ou stigmates privant l'insecte d'oxygène et provoquant ainsi son asphyxie. La cuticule de ces insectes est principalement constituée de chitine qui est un polysaccharide azoté. En contact avec l'huile d'olive ou avec un acide gras polyinsaturé, il y a formation d'un polyester de couleur blanche à la surface de l'insecte qui résulterait probablement de la réaction entre **OH** du polysaccharide et l'acide (**R-COOH**).

La réduction de la fécondité n'est pas seulement liée à la diminution de la période de ponte ou de survie des femelles adultes mais elle peut être aussi la conséquence d'une perturbation de tout le processus de vitellogenèse. L'examen au microscope électronique à balayage des œufs pondus sur des graines traitées a révélé un dépôt de produits dans le micropyle, la voie à travers laquelle se font les échanges gazeux. Cette activité ovicide serait également liée à l'accumulation des métabolites toxiques qui inhibent l'activité métabolique des œufs. Une diffusion des traitements à travers la cuticule de la larve néonate a été également observée.

L'huile d'olive et son principal constituant, l'acide oléique, ont montré un potentiel larvicide intéressant en présence des graines de niébé infestées par les larves de *C. maculatus*. En effet, ces deux produits ont manifesté une activité sur la viabilité post embryonnaire de la bruche et ce, quelque soit le stade larvaire traité. Quand les traitements sont appliqués sur les stades **L1** et **L3**, le nombre d'adultes qui émergent diminue significativement, particulièrement aux fortes doses. Pour les **L4**, plus résistantes aux traitements, leur nombre est de l'ordre de 60% comparativement au lot témoin. Au vu des résultats obtenus, ces deux substances pourraient donc constituer une solution biologique curative à exploiter en cas d'infestation des graines.

Par ailleurs, ces traitements avec l'huile d'olive, à partir de la dose de 200µl, l'acide oléique (100 µl), l'acide linoléique (125 µl) et le mélange des acides gras (100 µl), protègent totalement les graines des pertes en poids (0%). Grâce à ces mêmes traitements, la viabilité germinative des graines est sauvegardée (100% avec l'huile d'olive, l'acide oléique et avec le mélange des 4 acides gras et 90% avec l'acide linoléique).

Tous les indicateurs de qualité de la graine, conservée pendant 3 mois, montrent que l'huile d'olive est un produit qui peut être utilisé sans risque majeur sur le plan nutritionnel. Les valeurs énergétiques enregistrées avec les graines de niébé utilisées dans cette étude sont de l'ordre de 365 kcal (lots traités ou non traités), ce qui dénote la bonne qualité de la légumineuse. Ce paramètre de qualité n'est nullement affecté par

le traitement utilisé mais qu'il faudra confirmer par d'autres investigations plus approfondies. L'huile d'olive pourrait donc aisément constituer une alternative efficace dans la conservation de cette légumineuse, en remplacement des produits de synthèse chimique qui ne sont pas sans conséquences sur la santé du consommateur.

L'huile d'olive et l'acide oléique ont nettement révélé leurs effets insecticides sur la bruche infestant des graines fraîchement traitées. La persistance de l'efficacité de ces traitements diminue malheureusement dans le temps sur l'ensemble des paramètres évalués, à l'exception de l'effectif de la descendance de la bruche. La survie post embryonnaire reste totalement inhibée sur des graines ayant subi des traitements à l'huile d'olive (**HO**) datant de 1 à 9 mois avant d'être infestées. Alors que pour les traitements à base d'acide oléique (**AO**), les effectifs des adultes émergents demeurent faibles. Donc un traitement à base d'huile d'olive, permet une protection durable des graines de niébé contre *C. maculatus*. L'action synergique des différents constituants des huiles en serait fort probablement responsable de la rémanence.

Les résultats obtenus s'ouvrent tout de même sur certaines perspectives:

- Sur le plan pratique, il serait intéressant de tester à plus grande échelle le potentiel insecticide de l'huile d'olive en passant par des essais pilotes (à petite échelle).
- Elucider l'activité synergique des différents composants de l'huile d'olive à l'égard de l'insecte ravageur étudié.
- Effectuer des essais en combinant l'utilisation de l'huile d'olive contre les formes découvertes (œufs et adultes) et des huiles essentielles contre les formes cachées.
- Rechercher l'effet des différents sous produits oléicoles (grignons, margines, etc...) sur les principaux insectes ravageurs des denrées stockées, dans le cadre de leur valorisation.
- Approfondir les tests de qualité des graines conservées avec l'huile d'olive et/ou ses composants en vue de respecter les normes de sécurité sanitaire.
- Bien que le processus de germination des graines de *V. unguiculata* ne soit pas affecté par les traitements (huile d'olive, acide oléique), il faut que la semence issue des graines traitées réponde aussi à certains critères d'état sanitaire et de conformité.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- ABD EL-RAZIK M. A.A ., RASHWAN M.H. & ZIDAN L.T. M. (2013):** Insecticidal activity of pyridalyl, spinosad alone and combined with vegetable oils on growth development and reproductive performance of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Nature and Science*, **11**(4):118-127.
- ABDOUL HABOU Z., HAUGUI A., BASSO A., ADAM T., HAUBRUGE E. & VERHEGGEN J.F. (2014):** Insecticidal effect of *Jatropha curcas* L. seed oil on *Callosobruchus maculatus* and *Bruchidius atrolineatus* Pic (Coleoptera: Bruchidae) on stored cowpea seeds *Vigna unguiculata* in Niger. *African Journal of Agricultural Research*, **9**: 2506-2510.
- ABDULLAHI N., MAJEED Q. & OYEYI T.I. (2011):** Studies on the efficacy of *Vittalaria paradoxa* seed oil on the oviposition, hatchability of eggs and emergence of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) on treated cowpea seed. *Journal of Entomology*, **8**: 391-397.
- ADAM T. (1986):** Contribution à la connaissance des maladies du niébé *Vigna unguiculata*. *Thèse de docteur Ingénieur*, Université de Rennes (France), 128pages.
- ADJALIAN E., NOUDOGBESSI J.P., KOSSOU D & SOHOUNHLOUE D. (2014):** Etat et perspectives de lutte contre *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789), déprédateur des céréales au Bénin: synthèse bibliographique. *Journal of Applied Biosciences*, **79**: 6955-6967.
- AHMED K., KHALIQUE F., AFZAL M., MALIK B.A. & MALIK M.R. (1988):** Efficacy of vegetable oils for protection of green gram from attack of bruchid beetle. *Pakistan Journal of Agricultural, Research*, **9** (3): 413-416.

- AHMED K.S., ITINO T. & ICHIKAWA T. (1999):** Effects of plant oils on oviposition preference and larval survivorship of *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) on azuki bean. *Applied Entomology and Zoology*, **34**(4): 547-550.
- AHMED K.S., YASUI Y. & ICHIKAWA T. (2001):** Effects of neem oil on mating and oviposition behaviour of azuki bean weevil, *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **4**(11): 1371-1373.
- ALZOUMA I. (1995):** Connaissance et contrôle des coléoptères Bruchidae ravageurs des légumineuses alimentaires au sahel. *Sahel IPM*, N°1: 4,10,11.
- ANONYME 1 (2011):** [http://senegalfouta.canalblog.com/albums/ la cuisine nyaamde e yaarde/ photos/78801743-le niebe les haricots village de gawde bofe](http://senegalfouta.canalblog.com/albums/la_cuisine_nyaamde_e_yaarde/photos/78801743-le_niebe_les_haricots_village_de_gawde_bofe)
- ANONYME 2 (2015):** [https:// fr.wikipedia.org/wiki/acide oléique](https://fr.wikipedia.org/wiki/acide_oléique).
- BALACHOWSKY A.S. (1962):** Entomologie appliquée à l'agriculture, les coléoptères. *Ed. Masson et Cie*, Paris, Tome 1, 547p.
- BAMAIYI L.J., NDAMS I.S., TORO W.A. & ODEKINA S. (2006):** Effect of mahogany *Khaya senegalensis* seed oil in the control of *Callosobruchus maculatus* on stored cowpea. *Plant Protection Science*, **42** (4): 130-134.
- BAUDOIN J.P. (2001):** Contribution des ressources phylogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, **5**(4): 221-230.
- BECK C.W. & BLUMER L.S. (2014):** A Handbook on Bean Beetles, *Callosobruchus maculatus*. *National Science Foundation Ed.*, 14p.
- BELL C.H. & WILSON S.M. (1995):** Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research*, **31**(3): 199 -205.
- BENHALIMA H., CHAUDHRY M.Q., MILLS K.A. & PRICE N.R. (2004):** Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. *Journal of Stored Products Research*, **40**: 241-249.
- BENRACHOU N. (2013):** Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique des huiles d'olive issues de trois cultivars de l'Est algérien. *Thèse de Doctorat*. Université Badji Mokhtar, Annaba, 105p.
- BORGET M. (1989):** Les légumineuses vivrières tropicales. *Edition : Maisonneuve et Larose*, Paris, 161p.
- CARDET C., KANDJI T., DELOBEL A. & DANTHU P. (1998):** Efficiency of neem and groundnut oils in protecting leguminous tree seeds against seed beetles in the Sahel. *Agroforestry Systems*, **40**: 29-40.
- CHEFTEL J.C. & CHEFTEL H. (1992):** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments, Paris : *Lavoisier* ; (*Tec & doc*), 800p.
- COI (2011):** Détermination des caractéristiques des olives à huile. *COI/OH/Doc. N°1, Novembre 2011*.
- COI (2015):** Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. *COI/T.15/NC n°3, Revue 8*.

- COMELADE E. (1990):** Technologie et hygiène alimentaire: Les nutriments. Paris, 7<sup>ème</sup> Editions Jaques Lanore, 144p.
- CREDLAND P.F. (1992):** The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *Journal of Stored Products Research*, **28**: 1-9.
- CRONQUIST A. (1981):** An integrated system of classification of flowering plants. *Columbia University*, Paris, New York, 1262p.
- DAGNELIE P. (1975):** Théories et méthodes statistiques. *Les presses agronomiques de Gembloux*, Belgique, **2**: 245-249.
- DAJOZ R. (1982):** Précis d'écologie. Ed. Bordas, Paris, 503p.
- DAOUDI F.D. & CHERIF A. (1981):** Etude comparative des acides gras de quelques huiles d'olives tunisiennes. Influence du procédé technologique d'extraction sur la qualité des huiles obtenues, *Revue Française des corps gras*, **5**: 236-245.
- DE GROOT I. (2004):** Protection des céréales et des légumineuses stockées. *Agrodok 18. Digigraphi*, Wageningen, Pays Bas, 74p.
- DE LA CRUZ PEREZ A., ROMERO NAPOLES J., CARRILO SANCHEZ J.L., GARCIA LOPEZ E., GREYER GONZALEZ R., SANCHEZ SOTO S. & PEREZ DE LA CRUZ M. (2013):** Brùquidos (Coleoptera: Bruchidae) Del Estado de Tabasco, Mexico. *Acta Zoologica Mexicana (n.s.)*, **29(1)**: 1-95.
- DELOBEL A. & TRAN M. (1993):** Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. *Ed. Orstom*, Paris, 442p.
- DIALLO KOFFI S., SORO D., ASSIDJO N.E., YAO KOUASSI B. & GNAKRI D. (2015) :** Caracterisation biochimique et fonctionnelle des graines de sept cultivars de voandzou [*vigna subterranea*] cultivées en côte d'ivoire. *European Scientific Journal*, **11(27)**: 288-304.
- DON-PEDRO K.N. (1989):** Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus*. *Pesticide Science*, **26**: 107-115.
- DON-PEDRO K.N. (1990):** Insecticidal Activity of Fatty Acid Constituents of Fixed Vegetable Oils against *Callosobruchus maculatus* on Cowpea. *Pesticide Science*, **30**: 295-302.
- DOUMMA A. & ALZOUMA I. (2001):** Effets de *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. Ex Poir. (Capparaceae) sur l'évolution des populations de bruches dans les systèmes de stockage traditionnel de niébé (*Vigna unguiculata*) en zone sahélienne. *Tropicultura*, **19(4)**: 199-202.
- DOUMMA A., LIMAN A.I., TOUDOU A. & ALZOUMA I. (2006):** Comportement de vingt variétés de niébé de (*Vigna unguiculata*) vis-à-vis de *Bruchidius atrolineatus* (Pic) et *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). *Cahiers Agricultures*, **15 (2)**: 187-193.
- DOUMMA A., SALISSOU O., SEMBENE M., SIDIKOU R.S.D., SANON A., KETOH G.K. & GLITHO I.A. (2011):** Etude de l'activité reproductrice de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) sur dix variétés de niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., en présence ou non de son parasitoïde, *Dinarmus basalis* R. (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Animal and Plant Sciences*, **11**: 1398-1408.
- DUGJE I.Y., OMOIGUI L.O., EKELEME F., KAMARA A.Y. & AJEIGBE H. (2009):** Production du niébé en Afrique de l'ouest: guide du paysan. *Institut international d'agriculture tropicale (IITA)*, Ibaden, Nigeria, 20p.

- FAO (2008):** An introduction to the basic concepts of food security, Published by the EC - FAO Food Security Program, 3p.
- FAO, FIDA & PAM (2015):** L'état de l'insécurité alimentaire dans le monde. Objectifs internationaux 2015 de réduction de la faim: Des progrès inégaux. FAO, Rome.
- FERY R.L. (1985):** The genetics of cowpea: a review of the world literature. In: Cowpea research, production and utilization, S.R. Singh et K.O. Rachie Ed., New York, Etats-Unis, Wiley, 25-62.
- FOLEFACK D.P., SOBDA A.G., TENGOMO S., BOUKAR O. & TAHIROU A. (2013):** Vulgarisation de la méthode du triple ensachage pour le stockage amélioré du niébé en zone sahélienne du nord Cameroun : Enjeux et perceptions paysannes. *Tropicultura*, **31 (3)**: 170-178.
- FOWDEN G.M. & JENNINGS P.R. (1980):** Breeding Plants Resistant to Insects, Ed. Wiley, New York, 18-19.
- GAKURU S. & FOUABI K. (1996):** Effet d'extraits de plantes sur la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*) et le charançon de riz (*Sitophilus oryzae* L). *Cahiers Agricultures*, **5(1)**: 34-42.
- GLITHO I.A. (1990):** Les Bruchidae ravageurs de *Vigna unguiculata*. en zone guinéenne: Analyse de la diapause reproductrice chez les mâles de *Bruchidius atrolineatus* Pic. *Thèse de Doctorat*, Université François Rabelais, Tours, 100p.
- GREENFIELD H. & SOUTHGATE D.A.T. (1992):** Food composition data: production, management and use. *Chapman & Hall*, 243p.
- GUEYE M.T., SECK D., WATHELET J.P & LOGNAY G. (2011):** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale: synthèse bibliographique. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, **15(1)**: 183-194.
- GWINNER J., HARNISCH R. & MUCK O. (1996):** Manual on the prevention of post-harvest grain losses, Ed. GTZ, Germany, 19p.
- HAUBRUGE E. & AMICHOT M. (1998):** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement*, **2(3)**: 161-174.
- HEDJAL-CHEBHEB M. (2014):** Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Etude de leurs activités biologiques à l'égard d'un insecte ravageur des graines stockées, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). *Thèse de doctorat en biologie*. Université Mouloud Mammeri Tizi- ouzou, 103p.
- HERZI N. (2013):** Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles. *Thèse de doctorat*. INPT de Toulouse, 177p.
- HOSSAIN M.A., ALIM M. A., AHMED K.S. & HAQUE M. A. (2014):** Insecticidal potentials of plant oils against *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera : Bruchidae) in stored chickpea. *Journal of Entomological Society of Iran*, **34(3)**: 47-56.
- HOUINSOU R.L.F., ADJOU E.S., AHOUSSE E.D., SOHOUNHLOUÉ D.C.K. & SOUMANOU M. (2014):** Biochemical and sensorial characteristics of cowpea (*Vigna unguiculata*) stored with essential oils extracted from plants of Myrtaceae family. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **9(1)**: 428-437.

- HUANG J., SCHOLS H.A., VAN SOEST J.J.G., JIN Z., SULMANN E. & VORAGEN A.G.J (2007):** Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. *Food chemistry*, **101**: 1338-1345.
- IBRAHIM M.Y. (2012):** Efficacy of some plant oils against stored-product pest cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) on chickpea seeds. *Persian Gulf Crop Protection*, **1(1)**: 4-11.
- ILBOUDO Z. (2009):** Activité biologique de quatre huiles essentielles contre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), insecte ravageur des stocks de niébé au Burkina Faso. *Thèse de doctorat en sciences biologiques appliquées*. Université d'Ouagadougou, Burkina-Faso, 149p.
- ISMAN M.B. (2000):** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, **19**: 603-608.
- JOHNSON F., SERI-KOUASSI B., ABOUA L.R.N. & FOUA-BI K. (2006):** Utilisation de poudres et d'extraits totaux issus de plantes locales des genres *Ocimum sp.* et *Mentha sp.* comme bio pesticides dans la lutte contre *Callosobruchus maculatus* (F.). *Agronomie Africaine*, **18(3)**: 221-233.
- JUC L. (2008) :** Etude des risques liés à l'utilisation des pesticides organochlorés et impact sur l'environnement et la santé humaine. *Thèse de Doctorat*. Université Claude Bernard - Lyon I, France, 185p.
- KADRI A., ZAKARI MOUSSA O., SIDOYACOUBA A., HAME ABDOU K.K. & KARIMOUNE L. (2013):** Gestion intégrée de *Maruca vitrata* (Fabricius, 1787) et *Megalurothrips sjostedti* (Trybom, 1908), deux insectes ravageurs majeurs du niébé au Niger. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **7(6)**: 2549-2557.
- KAYOMBO M.A., MUTOMBO T.J.M., SOMUE M.A., MUKA M.P., WEMBONYAMA O.M., TSHIBANGU B.K.E. & KABOKO K.J. (2014):** Effet de la poudre de basilic (*Ocimum basilicum*) dans la conservation des graines de niébé (*Vigna unguiculata*) en stock contre *Callosobruchus maculatus* à Mbuji-Mayi (RD. Congo). *Congo Sciences*, **2(2)**: 62-66.
- KAYOMBO M. A., MUTOMBO T. J. M., MUKA M. P., SOMUE M. A. & KALAMBAIE B. M. (2015):** Effet de la poudre de *Tephrosia vogelii* dans la conservation des graines de Niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp.) en stock contre *Callosobruchus maculatus* (F.) à Mbujimayi (RD. Congo). *Journal of Animal & Plant Sciences*, **25** (1): 3827-3835.
- KEITA S.M. (2000):** Recherche d'un insecticide d'origine botanique en vue de protéger les grains de niébé en stockage contre la bruche à quatre tâches, *Callosobruchus maculatus* en république de Guinée. *Thèse de Doctorat en Sciences de l'Environnement*. Université du Québec à Montréal, 182p.
- KEITA S.M., VINCENT C., SCHMIT J.P. & ARNASON J.T. (2001):** Insecticidal effect of *Thudja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Plant Science*, **81(1)**: 173 -177.
- KELLOUCHE A., SOLTANI N., KREITER S., AUGER J., ARNOLD I. & KREITER P. (2004):** Biological activity of four vegetable oils on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). *Redia*, **LXXXVII**, 39-47.
- KELLOUCHE A. & SOLTANI N. (2004):** Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus*. *International Journal of Tropical Insect Science*, **24**: 184-191.

- KELLOUCHE A. (2005):** Etude de la bruche du pois-chiche, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte. *Thèse de doctorat d'état*, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 155p.
- KELLOUCHE A., AIT-AIDER F., LABDAOUI K., MOULA D., OUENDI K., HAMADI N., OURAMDANE A., FREROT B. & MELLOUK M. (2010):** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Integrative Biology*, **10(2)**: 86-93.
- KERGOAT G.J., SILVAIN J.F., DELOBEL A., TUDA M. & ANTON K.W. (2007):** Defining the limits of taxonomic conservatism in host- plant use for phytophagous insects: Molecular systematics and evolution of host- plant associations in the seed-beetle genus *Bruchus Linnaeus* (Coleoptera : Chrysomelidae: Bruchinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **43**: 251-269.
- KETOH G.K., GLITHO I.A. & HUIGNARD J. (2002):** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. *Journal of Economic Entomology*, **95(1)**: 174-182.
- KINGSOLVER J.M. (2004):** Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada (Insecta, Coleoptera), **1**, 340p.
- KJELDAHL J. (1883):** Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z Analytical Chemistry*, **22** : 366-382.
- KOKO C.A., DIOMANDE M., KOUAME B.K., YAPO E.S.S, & KOUASSI J.N. (2016) :** Caractérisation physicochimique des graines de quatorze variétés de niébé (*Vigna unguiculata*) de Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **17(2)**: 496-505.
- KOUAKOU C.K., MACAULEY H.R., GUEYE M.C., OTTO M.C., RAMI J.F., CISSE N. & PASQUET R.S. (2007):** Diversité génétique des variétés traditionnelles de niébé (*Vigna unguiculata*) au Sénégal : étude préliminaire. *Plant Genetic Resources Newsletter*, N° **152**: 33-34.
- KOSSOU K.D. & AHO N. (1993):** Stockage et conservation des grains alimentaires tropicaux. Principes et pratiques. *Flamboyant Ed.* Cotonou, Benin, 125p.
- KUMAR R. (1991):** La lutte contre les insectes ravageurs. *Edition Karthala et CTA* ,France et Pays-Bas, 293p.
- LAFAYE DE MICHEAUX P., DROUILHET R. & LIQUET B. (2014):** Le logiciel R, maîtriser le langage, effectuer des analyses statistiques, *Springer*, 2ème Edition, 488p.
- LEPESME P. (1944):** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. *Ed. Paul le Chevalier*, Paris, 335p.
- LIENARD V., SECK D., LOGNAY G., GASPAR C. & SEVERIN M. (1993):** Biological activity of *Cassia occidentalis* L. against (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, **29**: 311-318.
- LIENARD V. & SECK D. (1994):** Revue des méthodes de lutte contre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), ravageur des graines de niébé (*Vigna unguiculata*) en Afrique tropicale. *International Journal of Tropical Insect Science*, **15(3)**: 301-311.
- MADAMBA R., GRUBBEN G. J. H., ASANTE, I. K. & AKROMAH R. (2006) :** *Vigna unguiculata*. Record from Protabase. Brink, M. & Belay, G. (Editors). *PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale)*, Wageningen, Netherlands.

- MALLAMAIRE A. (1962):** Les bruches des légumineuses au Sénégal. Communication présentée au 2<sup>ème</sup> congrès CCTA/CSA sur la conservation des denrées emmagasinées.
- MARECHAL R., MASCHERPA J.M. & STAINER F. (1978):** Etude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boissiera*, **28**: 1-273.
- MEBDOUA S. (2011) :** Caractérisation physico chimique de quelques populations de niébé *Vigna unguiculata* L. Walp. Influence des traitements technologiques. *Mémoire de magister. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie*, 82p.
- MEDIOUNI BEN JEMÂA J., TERSIM N., TALEB TOUDERT K. & LARBI KHOUDJA M. (2012):** Insecticidal activities of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, **48**: 97-104.
- MONDEDJI D., AMEVOIN K., NUTO Y. & GLITHO I.A. (2002):** Potential reproducteur de *Dinarmus basalis* Rond. (Hymenoptera : Pteromalidae) en présence de son hôte *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) on zone Guinéenne. *Insect Science and its Application*, **22(2)**: 113-121.
- MUKENDI R.T., MUNYINGA K.Y., NYEMBO D.N., ILUNGA M., KAZADI J.N. & DJAMBA O.E. (2013):** Effet de l'huile de palme dans la préservation du Niébé en stock contre *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) en milieu rural de Kabinda (RDC). *Journal en Ligne de l'ACASTI et du CEDESURK*, **1**: 9-13.
- MULTON J.I. (1991):** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2<sup>ème</sup> Edition, Paris: *Technique et documentation, Lavoisier, I* : 396p.
- MUSHOBOZY D. M. K., NGANILEVANU G., RUHEZA S. & SWELLA G. B. (2009):** Plant oils as common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seed protectant against infestations by the mexican bean weevil *Zabrotes subfasciatus* (Boh.). *Journal of Plant Protection Research*, **49**: 35-40.
- MUSTAFA Y.S. & ALI W. K. (2011):** The effect of some vegetable oil on adult longevity and female fecundity of cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). *Conference paper, International Scientific Conference of Salahaddine 18-20 Oct 2011, University-Erbil. Irak*.
- NANA P., NCHU F., BIKOMO R.M. & KUTIMA H.L. (2014):** Efficacy of vegetable oils against dry bean beetles *Acanthoscelides obtectus*. *African Crop Science Journal*, **22** (3): 175-180.
- NDIAYE M. (1986):** Bilan de trente ans de recherche sur le niébé au Sénégal. *Centre de Recherche Agronomique, Bambey, Sénégal*, 18p.
- NDOMO A.F. & NGAMO L.T. (2008):** Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (W.) J. D. Hooks ex. Benth. (Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Pest Science*, **81**: 227-234.
- NDOUTOUME-NDONG A. & ROJAS-ROUSSE D. (2007):** Y a-t-il élimination d'*Eupelmus orientalis* Crawford par *Eupelmus vuilleti* Crawford (Hymenoptera : Eupelmidae) des systèmes de stockage du niébé (*Vigna unguiculata*). *International Journal of Entomology*, **43(2)**: 139-144.
- NGAMO L.S.T. & HANCE T.H. (2007):** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicicultura*, **25(4)**: 215-220.

- NYABYENDA P. (2005):** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. *Les Presses Agronomiques de Gembloux*, Belgique, 216p.
- NYAMADOR S.W., KETOH G.K., KOUMAGLO H.K. & GLITHO I.A. (2010):** Activités ovicide et larvicide des huiles de *Cymbopogon giganteus* Chiov. et de *Cymbopogon nardus* L. Rendle sur les stades immatures de *Callosobruchus maculatus* F. et de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. (Coleoptera : Bruchidae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, **29**:67-79.
- OSEKRE E.A. & AYERTEY J.N. (2002):** Control of the cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae), on stored cowpea using vegetable oils. *Ghana Journal. Agricultural Science*, **35**: 103-110.
- OUEDRAOGO A.P. (1978):** Etude de quelques aspects de la biologie de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et de l'influence des facteurs externes stimulants (plante hôte et copulations) sur l'activité reproductrice de la femelle. *Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle*, Université Paul Sabatier, Toulouse, 101p.
- OUEDRAOGO P.A. (1991):** Le déterminisme du polymorphisme imaginal chez *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), son importance sur la biologie de cette bruche. *Thèse Doctorat*. Univ. Tours (France), 197p.
- OUEDRAOGO A.P., MONGE J.P. & HUIGNARD J. (1991):** Importance of temperature and seed water content on the induction of imaginal polymorphism in *Callosobruchus maculatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **59**: 59-66.
- OUEDRAOGO P.A., SOU S., SANON A., MONGE J.P., HUIGNARD J., TRAN B. & CREDLAND P.F. (1996):** Influence of temperature and humidity on population of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two climatic zones of Burkina Faso. *Bulletin of Entomological Research*, **86**: 695-702.
- PACHECO A.I., DE CASTRO F., PAULA D., LOURENCAO A., BOLONHEZI S. & BARBIERI M.K. (1995):** Efficacy of soybean and castor oils in the control of *Callosobruchus maculatus* and *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) in Stored Chick-peas (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Stored Products Research*, **31**: 221-228.
- PADRINI F. & LUCHERONI M.T. (1997):** Les huiles essentielles. *Editions De Vecchi S.A.* Paris, 94p.
- PARR M.J., TRAN B.M.D., SIMMONDS M.S.J., KITE G.C. & CREDLAND P.F. (1998):** Influence of some fatty acids on oviposition by the bruchid beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Chemical Ecology*, **24(10)**: 1577-1593.
- PASQUET R.S. & FOTSO M. (1994):** Répartition des cultivars de niébé *Vigna unguiculata* du Cameroun: Influence du milieu et des facteurs humains. *Journal. d'Agriculture Traditionnelle et de Botanique Appliquée*, ns **36(2)**: 93-143.
- PASQUET R. & BAUDOIN J.P. (1997):** Le niébé, *Vigna unguiculata*. In : L'amélioration des plantes tropicales. Ed. Charrier A., Jacquot M., Hammon S., Nicolas D., Montpellier (France), CIRAD-ORSTOM, 483-505.
- PIERRARD G. (1984):** Management and control of insect pests of stored grain legumes. In. *Proceeding, Internional Workshop on IPC for Grain Legumes Goiania, Goias*, Brésil, 276 -286.

- PIZANO M. (2014)**: Elimination du bromure de méthyle dans les pays en développement. *Programme des Nations Unies pour l'Environnement, PNUE*, 68p.
- POLLET A. (1995)**: Insectes ravageurs et parasites des légumineuses à graines en Afrique de l'ouest (cultures et stocks). *Centre ORSTOM d'Adiopodoumé, BPV. 51*, Abidjan, Côte d'Ivoire, 83p.
- RACCAUD-SCHOELLER J. (1980)**: Les insectes: Physiologie, Développement. *Ed. Masson*, 296p.
- RAISONNIER A. (2010)**: Structure biologique. Biochimie métabolique et régulation C1. *Faculté de Médecine, Université Pierre et Marie Curie*, 169p.
- RAJAPAKSE R.H.S. & VAN EMDEN H.F. (1997)**: Potentiel of four vegetable oils and ten botanical powders for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *Callosobruchus chinensis* and *Callosobruchus rhodesianus*. *Journal of Stored Products Research*, **33**: 59-68.
- RAMZAN M. (1994)**: Efficacy of edible oils against pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* (FAB.). *Journal of Insect Science*, **7**(1): 37-39.
- REGNAULT-ROGER C. & HAMRAOUI A. (1997)**: Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. *Acta. Botanica Gallica*, **144**(4): 401-412.
- REGNAULT-ROGER C., PHILOGENE J.R.B. & VINCENT C. (2002)**: Bio- pesticides d'origine végétale. Paris: *Lavoisier, Editions Tec et Doc*, 319p.
- RIGHI A.F., RIGHI K., KHELIL M.A. & PUJADE-VILLAR J. (2014)**: Biological control against the cowpea weevil (*Callosobruchus chinensis* L., Coleoptera : Bruchidae) using essential oils of some medicinal plants. *Journal of Plant Protection Research*, **54**(3): 211- 216.
- SANON A., SOU S., DABIRE L.C.B., OUEDRAOGO A.P. & HUIGNARD J. (2005)**: Combining *Boscia senegalensis* Lam. (Capparaceae) leaves and augmentation and the larval parasitoid *Dinarmus basalis* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) for bruchids control in stored cowpea. *Journal of Entomology*, **2**(1): 40-45.
- SECK D., SIDIBE B., HAUBRUGE E., HEMPTINNE J.L. & GASPARD C.H. (1991)**: La protection chimique des stocks de niébé et de maïs contre les insectes au Sénégal. *Med. Fac. Landbouwwet. Rijkuniv.,Gent*. **56/3b**: 1225-1233.
- SECK D. & GASPARD C.H. (1992)**: Efficacité du stockage du niébé (*Vigna unguiculata*) en fûts métalliques hermétiques comme méthode alternative de contrôle de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) en Afrique sahélienne. *Med. Fac. Landbouwwet. Rijkuniv., Gent*, **57/3a**: 751-758.
- SECK D. (1994)**: Développement de méthodes alternatives de contrôle des principaux insectes ravageurs des denrées emmagasinées au Sénégal par l'utilisation de plantes indigènes. *Thèse de Doctorat*, Gembloux, Université de Liège, Belgique, 191p.
- SEKOUR B. (2012)**: Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (H.O.V) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin). *Thèse de magistère*, Université M'hamed Bougara-Boumerdès, 116p.
- SILVA G.N., FARONI L.R.A., SOUSA A.H. & FREITAS R.S. (2012)**: Bioactivity of *Jatropha curcas* (L.) to insect pests of stored products. *Journal of Stored Products Research*, **48**: 111-113.
- SINGH S.R. & ALLEN D.J. (1979)**: Cowpea pests and diseases. *Manual Series No.2*. IITA, Ibadan, Nigeria, 113p.

- SINGH B.B., EHLERS J.D., SHARMA B. & FREIRE-FILHO F.R. (2000):** Recent progress in cowpea breeding. In challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production. *IITA*, p. 22-40.
- SKERMAN P.J. (1982):** Les légumineuses fourragères tropicales. Edition : Rome : *Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture*, 594p.
- STAMOULIS K. & ZEZZA A. (2003):** A Conceptual Framework for National Agricultural, Rural Development, and Food Security Strategies and Policies. *ESA Working Paper, No. 03-17*: Agricultural and Development Economics Division, FAO, Rome.
- STANTON W.R. (1970):** Les légumineuses à graines en Afrique. *Ed. FAO*, 199p.
- SULEIMAN M. & YUSUF M.A. (2011):** The potentiel of some plant powders as biopesticides against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) on stored grains. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, **4(2)**: 204-207.
- TAPONDJOU L.A., ADLER C., BOUDA H. & FONTEM D.A. (2002):** Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post- harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, **38**: 395-402.
- TOUFIQUE B.M., MOUMOUNI D.A., KADIDJATOU H.H. & DOUMMA A. (2014):** Etude de quelques facteurs influençant l'efficacité de l'activité insecticide de *Boscia senegalensis* Lam (Ex. Poir) dans le contrôle de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchinae), ravageur du niébé (*Vigna unguiculata*). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **8(1)**: 320-327.
- TOUMNOU A.L., SECK D., NAMKOSSERENA S., CISSE N., KANDIOURA N. & SEMBENE M. (2012):** Utilisation des plantes indigènes à effet insecticide pour la protection des denrées stockées contre les insectes ravageurs à Boukoko (Centrafrique). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **6(3)**: 1040-1050.
- UDDIN II R.O. & SANUSI S.A. (2013):** Efficacy of olive oil, groundnut oil, soybean oil and palm kernel oil in the control of *Callosobruchus maculatus* in stored cowpea (*Vigna unguiculata*). *Agrosearch*, **13**: 67-72.
- UDO I.O. (2011):** Protectant effect of plant oils against cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) on stored cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Agricultural and Biological Science*, **6**: 58-61.
- VAN DER WERF H.M.G. (1996):** Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **60(2-3)**: 81-96.
- WAHEDI J.A., ZAKARIYA R., DANBA E.P., DAVID D.L., MSHELMBULA B.P., BUBA U., BARAU B.W., DAUDA U.D. & BELLO H. (2015):** Ethnobotanical studies of the efficacy of five oils at graded levels on adult *Callosobruchus maculatus* reared on cowpea. *International Journal of Research and Review*, **2**: 481-486.
- WEINZEIRL R. (1998):** Botanicals insecticides, soaps and oils. In: Rechcigl JE: Rechcigl NA Biological, biotechnological control of insect pest in. *Lewis Publ.*, Boca Raton, Florida, 101-121.
- YEHOUENOU A. (1998):** Protection phytosanitaire du niébé: Nombre de traitements chimiques pour un bon rendement. *Bulletin de Recherche Agronomique*, **23**: 32-47.

**YUN-TAI Q.I. & BURKHOLDER W.E. (1981):** Protection of stored wheat from the granary weevil by vegetable oils. *Journa of Economic Entomology*, **74**: 502-505.

# **ANNEXES**

---

**ANNEXE I****Différents types d'huiles d'olive  
(COI, 2011)**

Les différents types d'huiles d'olive :

Le conseil international d'huile d'olive COI (2011) a défini les différents types d'huiles d'olive (vierge, raffinée, grignon) comme suit :

**1- Les huiles d'olive vierges** : Ce sont les huiles obtenues à partir du fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions thermiques qui n'entraînent pas l'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration. Les huiles d'olive propres à la consommation font l'objet du classement et des appellations ci-après :

- Huile d'olive vierge extra : C'est une huile dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8g pour 100g.
- Huile d'olive vierge : C'est une huile dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2g pour 100g.
- Huile d'olive vierge courante : C'est une huile dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3g pour 100g.

**2-Huile d'olive vierge lampante** (non propre à la consommation en l'état) : C'est l'huile d'olive vierge dont l'acidité libre exprimée en acide oléique est supérieure à 3,3g pour 100grammes. Elle est destinée au raffinage en vue de son utilisation pour la consommation humaine ou destinée à des usages techniques.

- Huile d'olive raffinée : Huile d'olive obtenue des huiles d'olive vierges par des techniques de raffinage qui n'entraînent pas des modifications de sa structure glycéridique initiale. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,3g pour 100g.
- Huile d'olive : Huile constituée par un coupage d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge propre à la consommation. Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 1g pour 100g.

**3-Huile de grignon d'olive** : Cette huile est obtenue par des traitements aux solvants ou d'autres procédés physiques des grignons d'olive à l'exclusion des huiles obtenues par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

**ANNEXE II**

**Les limites de variabilité de la teneur des acides gras de l'huile d'olive exprimée en %  
(Codex alimentarius)**

| Acides gras         |        | Codex alimentarius (%) |
|---------------------|--------|------------------------|
| Acide Myristique    | C14 :0 | ≤ 0.1                  |
| Acide Palmitique    | C16 :0 | 7.5 – 20.0             |
| Acide Palmitoléique | C16 :1 | 0.3 – 3.5              |
| Acide Margarique    | C17 :0 | ≤ 0.5                  |
| Acide Margaroléique | C17 :1 | ≤ 0.6                  |
| Acide Stéarique     | C18 :0 | 0.5 – 5.0              |
| Acide Oléique       | C18 :1 | 55.0 – 83.0            |
| Acide Linoléique    | C18 :2 | 3.5 – 21.0             |
| Acide Linoléinique  | C18 :3 | ≤ 1.5                  |
| Acide Arachidique   | C20 :0 | ≤ 0.8                  |
| Acide Gadoléique    | C20 :1 | -----                  |
| Acide Béhénique     | C22 :0 | ≤ 0.2                  |
| Acide Lignocérique  | C24 :0 | ≤ 1                    |

**ANNEXE III****La méthode de détermination de l'indice d'acidité de l'huile d'olive****Réactifs :**

- Ethanol (dissoudre les acides gras)
- Hydroxyde de potassium 0,1 N (0,1 mole /litre) (neutraliser les acides gras)
- Phénolphthaléine (10g/l dans l'éthanol) (indicateur de pH coloré : incolore en milieu acide, rose à fuchsia en milieu basique)

**Verrerie :**

- 2 Erlen Meyer
- 1 burette de 10 ml (graduée tous les 0,2 ml)

**Matériel**

- Balance analytique
- Plaque chauffante

**Protocole expérimental**

Dans un Erlen Meyer 1, mettre 25 ml d'éthanol + 0,5 ml de la solution de phénolphthaléine. Porter à ébullition. A température encore élevée, neutraliser (en utilisant une burette) avec précaution tout en agitant l'Erlen Meyer avec la solution à 0,1 mole/l de KOH jusqu'à apparition d'une coloration rose persistant pendant au moins 10 secondes.

Dans un Erlen Meyer 2, peser 2,5 g d'huile. Ajouter l'éthanol neutralisé (contenu de l'Erlen Meyer 1). Mélanger soigneusement. Porter le contenu à ébullition et titrer avec la solution de KOH (Burette), en agitant vigoureusement le contenu de l'Erlen Meyer pendant le titrage. Arrêter le titrage quand la coloration rose persiste pendant au moins 10 secondes. Noter la chute de la burette (volume de KOH).

**Calcul de l'acidité**

$$A(\%) = V.C .M/10.M$$

Où :

V : Volume en ml de la solution de KOH utilisé pour le titrage.

C : Concentration exacte en mole/l de la solution de KOH.

M : Masse molaire (g/mole) de l'acide gras retenu pour l'expression du résultat (acide oléique : 282g/mole).

M : Masse, en gramme, de la prise d'essai.

**ANNEXE IV****Détermination de l'Indice de Peroxyde (IP) (ISO 3960)****Réactifs**

- Chloroforme
- Acide acétique
- Solution aqueuse d'iodure de potassium saturée
- Thiosulfate de sodium 0,01N
- Solution d'amidon

**Matériel**

Erlen Meyer, pipettes (1, 10, 15ml), bécher, burettes (10,25ml), balance analytique, agitateur magnétique.

**Mode opératoire**

- Peser 2g d'huile d'olive dans un Erlen Meyer.
- Ajouter 10ml de chloroforme + 15ml d'acide acétique tout en agitant afin de dissoudre l'échantillon.
- Ajouter 1ml de la solution de **KI**. Boucher aussitôt. Agiter énergétiquement pendant 1min. Laissez 5mn à l'abri de la lumière, à une température comprise entre 15°C et 25°C puis ajouter 75 ml d'eau distillée.
- Titrer avec la solution de thiosulfate de sodium pour passer de la couleur orangée à jaune pâle.
- Ajouter 0,5 ml de la solution d'amidon. Agiter énergiquement. Si une couleur violacée apparaît, il ya présence de peroxydes.
- Titrer, tout en agitant, avec la solution de thiosulfate de sodium (0,01N) jusqu'à disparition de coloration violette.
- Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions.
- L'indice de peroxyde est déterminé par la formule suivante :

$$IP = \frac{V-V_0}{F} * N * 1000$$

V : est le volume en ml de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisé pour la détermination.

V<sub>0</sub> : est le volume en ml de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

P : est la prise d'essai en grammes.

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

**ANNEXE V**

**Résultats du test de Kuskall-Wallis, au seuil de 5%, pour l'effet des facteurs traitements et durée du traitement sur le paramètre longévité de *C. maculatus*.**

| <b>Groupes</b> | <b>Traitements x Temps</b> | <b>Moyennes des rangs</b> |
|----------------|----------------------------|---------------------------|
| a              | AO*5mois                   | 66.50                     |
| a              | HO*5mois                   | 66.50                     |
| a              | AO*4mois                   | 66.25                     |
| ab             | AO*1mois                   | 59.88                     |
| ab             | AO*6mois                   | 59.75                     |
| ab             | AO*2mois                   | 57.00                     |
| ab             | AO*8mois                   | 55.50                     |
| ab             | HO*8mois                   | 52.75                     |
| ab             | Témoin                     | 52.12                     |
| ab             | HO*3mois                   | 50.62                     |
| ab             | AO*3mois                   | 49.12                     |
| ab             | AO*9mois                   | 45.75                     |
| ab             | HO*6mois                   | 42.12                     |
| ab             | HO*9mois                   | 38.88                     |
| ab             | AO*7mois                   | 33.25                     |
| ab             | HO*2mois                   | 32.38                     |
| ab             | HO*7mois                   | 32.00                     |
| ab             | HO*1mois                   | 29.12                     |
| ab             | HO*4mois                   | 28.38                     |
| <b>b</b>       | AO*0mois                   | 06.50                     |
| <b>b</b>       | HO*0mois                   | 02.50                     |

**ANNEXE VI**

**Résultats du test de Kuskall-Wallis, au seuil de 5%, pour l'effet des facteurs traitements et durée du traitement sur le paramètre fécondité de *C. maculatus*.**

| <b>Groupes</b> | <b>Traitements x Temps</b> | <b>Moyennes des rangs</b> |
|----------------|----------------------------|---------------------------|
| a              | Témoin                     | 83.50                     |
| ab             | AO*1mois                   | 71.88                     |
| ab             | AO*2mois                   | 59.88                     |
| ab             | HO*7mois                   | 59.62                     |
| abc            | HO*4mois                   | 52.12                     |
| abc            | HO*8mois                   | 50.88                     |
| abc            | HO*1mois                   | 49.38                     |
| abc            | AO*4mois                   | 48.38                     |
| abc            | HO*6mois                   | 46.12                     |
| abc            | HO*2mois                   | 45.75                     |
| abc            | HO*9mois                   | 43.38                     |
| bc             | AO*6mois                   | 39.50                     |
| bc             | HO*5mois                   | 38.25                     |
| bc             | AO*8mois                   | 36.88                     |
| bc             | HO*3mois                   | 35.50                     |
| bc             | AO*3mois                   | 34.12                     |
| bc             | AO*7mois                   | 34.12                     |
| bc             | AO*5mois                   | 29.38                     |
| bc             | AO*9mois                   | 27.88                     |
| c              | AO*0mois                   | 04.50                     |
| c              | HO*0mois                   | 04.50                     |

**ANNEXE VII**

**Résultats du test de Kuskall-Wallis, au seuil de 5%, pour l'effet des facteurs traitements et durée du traitement sur le paramètre éclosion des œufs de *C. maculatus*.**

| <b>Groupes</b> | <b>Traitements x Temps</b> | <b>Moyennes des rangs</b> |
|----------------|----------------------------|---------------------------|
| <b>a</b>       | Témoin                     | 79.75                     |
| <b>ab</b>      | AO*9mois                   | 77.00                     |
| <b>abc</b>     | AO*4mois                   | 70.75                     |
| <b>abcd</b>    | AO*3mois                   | 69.25                     |
| <b>abcde</b>   | AO*7mois                   | 61.75                     |
| <b>abcdef</b>  | AO*8mois                   | 58.38                     |
| <b>abcdefg</b> | AO*2mois                   | 58.00                     |
| <b>abcdefg</b> | AO*5mois                   | 57.50                     |
| <b>abcdefg</b> | AO*1mois                   | 52.88                     |
| <b>bcdefgh</b> | AO*6mois                   | 44.00                     |
| <b>cdefgh</b>  | HO*9mois                   | 42.00                     |
| <b>defghi</b>  | HO*4mois                   | 36.00                     |
| <b>efghi</b>   | HO*3mois                   | 32.50                     |
| <b>efghi</b>   | HO*5mois                   | 31.25                     |
| <b>fghi</b>    | HO*6mois                   | 27.25                     |
| <b>fghi</b>    | HO*2mois                   | 26.75                     |
| <b>fghi</b>    | HO*7mois                   | 25.25                     |
| <b>ghi</b>     | HO*8mois                   | 24.00                     |
| <b>hi</b>      | HO*1mois                   | 16.00                     |
| <b>i</b>       | AO*0mois                   | 04.50                     |
| <b>i</b>       | HO*0mois                   | 04.50                     |

**ANNEXE VIII**

**Résultats du test de Kuskall-Wallis, au seuil de 5%, pour l'effet des facteurs traitements et durée du traitement sur le paramètre descendance de *C. maculatus*.**

| <b>Groupes</b> | <b>Traitements x Temps</b> | <b>Moyennes des rangs</b> |
|----------------|----------------------------|---------------------------|
| <b>a</b>       | Témoin                     | 84.50                     |
| <b>ab</b>      | AO*2mois                   | 74.00                     |
| <b>b</b>       | AO*1mois                   | 72.62                     |
| <b>bc</b>      | AO*7mois                   | 69.38                     |
| <b>bcd</b>     | AO*3mois                   | 64.00                     |
| <b>bcd</b>     | AO*4mois                   | 64.00                     |
| <b>cde</b>     | AO*8mois                   | 58.38                     |
| <b>cde</b>     | AO*5mois                   | 57.38                     |
| <b>de</b>      | AO*6mois                   | 55.25                     |
| <b>e</b>       | AO*9mois                   | 47.50                     |
| <b>f</b>       | AO*0mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*0mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*1mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*2mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*3mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*4mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*5mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*6mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*7mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | AO*8mois                   | 22.50                     |
| <b>f</b>       | HO*9mois                   | 22.50                     |

**ANNEXE IX**

**Résultats du test de Kuskall-Wallis, au seuil de 5%, pour l'effet des facteurs traitements et durée du traitement sur le paramètre germination de *V. unguiculata*.**

| <b>Groupes</b> | <b>Traitements x Temps</b> | <b>Moyennes des rangs</b> |
|----------------|----------------------------|---------------------------|
| <b>a</b>       | AO*0mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*0mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*1mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*2mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*3mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*4mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*5mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*6mois                   | 68.50                     |
| <b>a</b>       | HO*7mois                   | 68.50                     |
| <b>ab</b>      | HO*9mois                   | 57.50                     |
| <b>ab</b>      | HO*8mois                   | 56.88                     |
| <b>bc</b>      | AO*6mois                   | 33.88                     |
| <b>cd</b>      | AO*9mois                   | 30.75                     |
| <b>cd</b>      | Témoin                     | 30.75                     |
| <b>cd</b>      | AO*5mois                   | 24.38                     |
| <b>cd</b>      | AO*8mois                   | 22.38                     |
| <b>cd</b>      | AO*4mois                   | 22.00                     |
| <b>cd</b>      | AO*3mois                   | 15.88                     |
| <b>cd</b>      | AO*2mois                   | 14.88                     |
| <b>cd</b>      | AO*1mois                   | 13.75                     |
| <b>d</b>       | AO*7mois                   | 08.75                     |

**ANNEXE X****Détermination de la DL50 des traitements utilisés en utilisant la droite de régression des probits en fonction des logarithmes des doses**

La DL50 est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance. Cet indicateur mesure la dose de la substance qui, administrée d'un seul coup, entraîne la mortalité de la moitié (50%) de la population traitée. Plus la DL50 est faible, plus la substance est toxique. Elle est déterminée à partir du tracé de la droite de régression ( $y = ax + b$ ) des probits en fonction des logarithmes népériens des doses.

Pour tracer cette droite, le pourcentage de mortalité a été corrigé à l'aide de la formule d'ABBOTT, pour éliminer la mortalité naturelle MC (%) =  $(M - MT) \times 100 / (100 - MT)$ .

MC (%) : Mortalité corrigée.

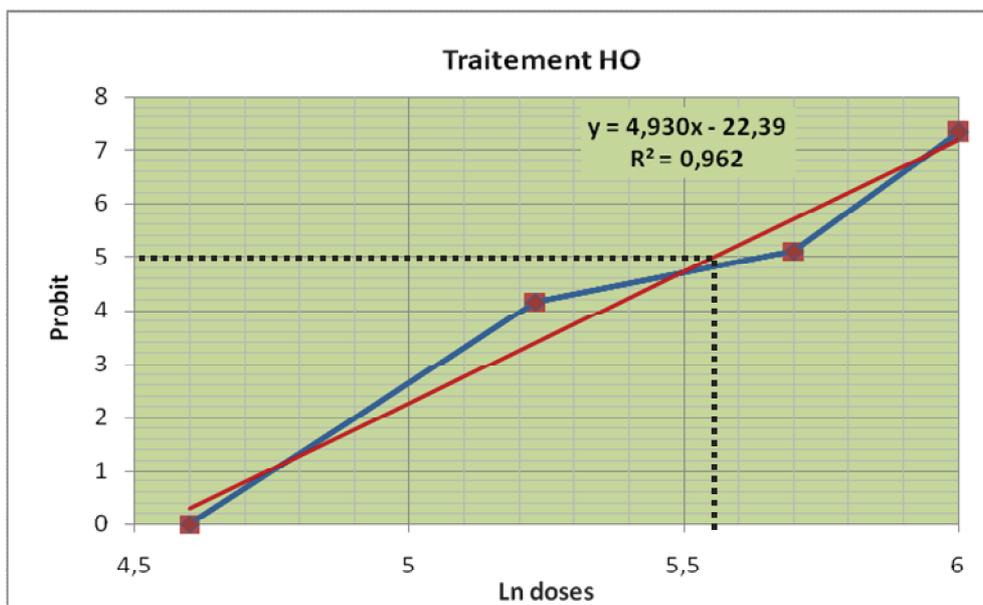
M (%) : Mortalité observée dans la population traitée.

MT (%) : Mortalité dans le témoin.

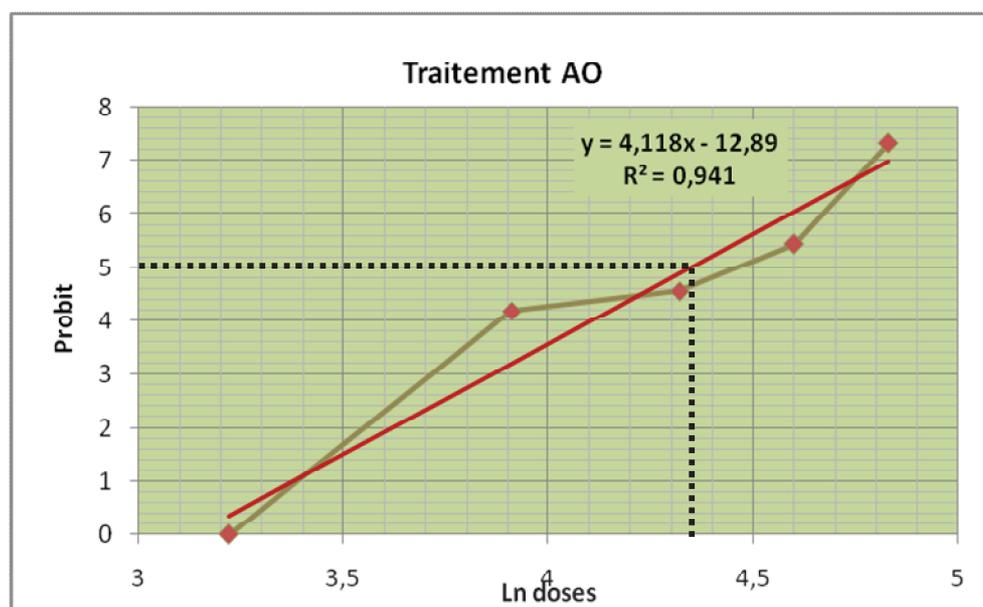
Les pourcentages de mortalité corrigée (MC %) sont ensuite transformés en probits et les doses en logarithmes népériens (Tableau 1. Annexe 10). Les résultats obtenus permettent de lire la DL50 sur la droite de régression en prenant la valeur correspondante au probit 5.

**Tableau 1. Annexe 10** : Transformation de la mortalité corrigée (%) en probits

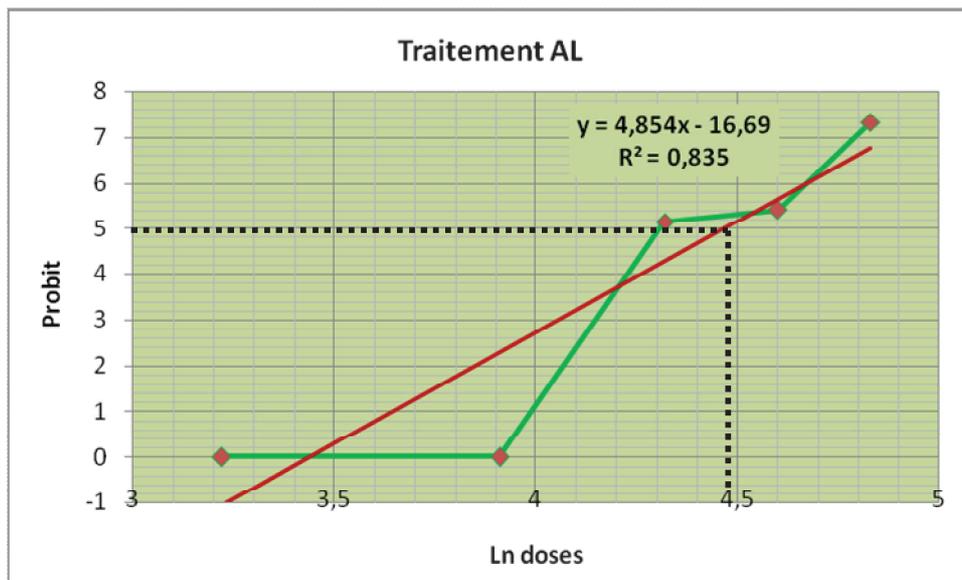
| Mortalité corrigée(%) | 0           | 1           | 2           | 3           | 4           | 5           | 6           | 7           | 8           | 9           |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0                     |             | 2,67        | 2,95        | 3,12        | 3,25        | 3,36        | 3,45        | 3,52        | 3,59        | 3,66        |
| 10                    | 3,72        | 3,77        | 3,82        | 3,87        | 3,92        | 3,96        | 4,01        | 4,05        | 4,08        | 4,12        |
| 20                    | 4,16        | 4,19        | 4,23        | 4,26        | 4,29        | 4,33        | 4,36        | 4,39        | 4,42        | 4,45        |
| 30                    | 4,48        | 4,50        | 4,53        | 4,56        | 4,59        | 4,61        | 4,64        | 4,67        | 4,69        | 4,72        |
| 40                    | 4,75        | 4,77        | 4,80        | 4,82        | 4,85        | 4,87        | 4,90        | 4,92        | 4,95        | 4,99        |
| 50                    | 5,00        | 5,03        | 5,05        | 5,08        | 5,10        | 5,13        | 5,15        | 5,18        | 5,20        | 5,23        |
| 60                    | 5,25        | 5,28        | 5,31        | 5,33        | 5,36        | 5,39        | 5,41        | 5,44        | 5,47        | 5,50        |
| 70                    | 5,52        | 5,55        | 5,58        | 5,61        | 5,64        | 5,67        | 5,71        | 5,74        | 5,77        | 5,81        |
| 80                    | 5,84        | 5,88        | 5,92        | 5,95        | 5,99        | 6,04        | 6,08        | 6,13        | 6,18        | 6,23        |
| 90                    | 6,28        | 6,34        | 6,41        | 6,48        | 6,55        | 6,64        | 6,75        | 6,88        | 7,05        | 7,33        |
| 99                    | 0,0<br>7,33 | 0,1<br>7,37 | 0,2<br>7,41 | 0,3<br>7,46 | 0,4<br>7,51 | 0,5<br>7,58 | 0,6<br>7,75 | 0,7<br>7,75 | 0,8<br>7,88 | 0,9<br>8,09 |



**Figure 1. Annexe 10 :** Droite de régression de la mortalité (Probits) en fonction des Ln des doses du traitement à base de l'huile de d'olive (avec DL50=262.4 $\mu$ l)



**Figure 2. Annexe 10 :** Droite de régression de la mortalité (Probits) en fonction des Ln des doses du traitement à base d'acide oléique (avec DL50=77.5 $\mu$ l)



**Figure 3. Annexe 10 :** Droite de régression de la mortalité (Probits) en fonction des Ln des doses du traitement à base d'acide linoléique (avec DL50=88.2 $\mu$ l)

## RESUME

L'huile d'olive et ses principaux constituants lipidiques ont été proposés dans cette thèse comme bio insecticides contre la bruche du niébé. L'étude de l'activité insecticide de six traitements par contact a révélé que l'huile d'olive, l'acide oléique et l'acide linoléique ont des effets sur la durée de vie des adultes (longévité inférieure à 24 heures) en affectant la fécondité et la descendance. L'évaluation des effets curatifs de l'huile d'olive et de son principal constituant, l'acide oléique, a montré un potentiel larvicide intéressant.

L'analyse des résultats des paramètres agronomiques (perte en poids et germination des graines) dénote que les traitements à l'huile d'olive, l'acide oléique, l'acide linoléique et le mélange assurent une protection totale des graines.

Les résultats de l'analyse de la composition nutritionnelle des graines de niébé saines et traitées à l'huile d'olive indiquent qu'il n'y a pas de différences notables entre les graines issues des traitements à l'HO et les graines du lot témoin.

Les essais de rémanence ont révélé que la viabilité post embryonnaire reste nulle en présence des graines ayant subies des traitements à l'huile d'olive durant une période allant de 1 à 9 mois avant d'être infestées. De plus, cette huile d'olive a préservé aussi la faculté germinative des graines tout au long de cette période de conservation.

Les résultats obtenus ouvrent des perspectives d'utilisation de l'huile d'olive vierge courante comme un moyen alternatif à l'usage des pesticides pour la conservation des graines de niébé contre *C. maculatus*. En plus de son activité insecticide, elle présente d'autres avantages comme la disponibilité, la faible toxicité et la biodégradabilité.

**Mots clés :** Huile d'Olive, Acides Gras, *Callosobruchus maculatus*, Niébé, Valeur Nutritionnelle, Rémanence.

---

## ABSTRACT

Olive oil and its main lipid constituents have been proposed in this thesis as bio insecticides against the cowpea beetle. The study of the insecticidal activity of six contact treatments revealed olive oil, oleic acid and linoleic acid have undeniable effects on the lifetime of adults (longevity less than 24 hours) by affecting their fertility and emerged adults. The evaluation of the curative effects of olive oil and its principal constituent, oleic acid has shown an interesting larvicidal potential.

The analysis of the results of the agronomic parameters (loss in weight and seeds germination) indicates that the treatments with olive oil, oleic acid, linoleic acid and the mixture ensure a total protection of the seeds.

The results of the analysis of the nutritional composition of the treated and the non-treated cowpea seeds indicate that there are no notable differences between seeds.

The persistence tests showed that the post-embryonic viability remains zero on seeds having undergone olive oil treatments over a period of 1 to 9 months before being infested. In addition, this olive oil has also preserved the germinative ability of the seeds throughout this storage period.

The results obtained indicate the possibility of using standing olive oil as an alternative to the use of pesticides for the conservation of cowpea seeds against *C. maculatus*. In addition to its insecticidal activity, it has other advantages such as availability, low toxicity and biodegradability.

**Key words:** Olive Oil, Fatty Acids, *Callosobruchus maculatus*, Cowpea, Nutritional Value, Persistence.