

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences
Agronomiques



Mouloud MAMMERI
(1917 - 16th Yenni, Kabylie 1989)
Ecrivain, anthropologue et ethnologue
berbère d'Algérie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science Biologiques

Spécialité : Biologie de la Conservation

Sujet :

**Activité Insecticide de l'huile essentielle du pin
maritime (*Pinus pinaster* L.) sur la bruche du
niébé *Callosobruchus maculatus*.F
(Coleoptera : Chrysomelidae: Bruchinae)**

Présenté par :

M^r BOUGUETTAYA Smail

Soutenu devant le jury :

Président
Promotrice
Examinatrice 1
Examinatrice 2

Mr AMROUN M.
Mme GOUCEM-KHELFANE K.
Mme MEDJDOUB-BENSAAD F.
Melle GUERMAH D.

Professeur UMMTO
MCCA UMMTO
Professeur UMMTO
DOCT UMMTO

Promotion : 2018 /2019

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères, tout d'abord au «Bon Dieu» pour la patience et la santé qu'il m'a offerte tout au long de mes études.

Je tiens à exprimer ma profondes gratitude à ma promotrice Mme GOUCEM-KHELFANE K., Maitre de Conférences Classe A à l'UMMTO, pour avoir suivi et dirigé ce travail, pour sa disponibilité et tous les précieux conseils qu'elle m'a prodigué tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Mes vifs remerciements vont aux membres du jury qui ont bien voulu accepté d'évaluer mon travail Mr AMROUN M., Mme MEDJDOUB-BENSAAD F et Melle GUERMAH D.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde reconnaissance à l'équipe du laboratoire qui nous permis de réaliser ce mémoire dans les meilleurs conditions.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A mon père que dieux accueille son âme dans son vaste paradis

A ma mère, pour ses sacrifices, son amour, son tendresse, son soutien et ses prières
tout au long de mes études,

A mes très chères frères et sœurs, pour leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre
soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Enfin je remercie mes amis et tout ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la
réalisation de ce travail.



Sommaire

Liste des tableaux**Liste des figures****Sommaire**

Introduction générale.....	1
-----------------------------------	----------

Chapitre I : Présentation de la plante hôte

1. Position systématique du niébé	4
2. Origine historique et répartition géographique	4
3. Botanique du niébé.....	5
4. Ecologie du niébé	6
5. Importance du niébé	6
5.1. Importance économique	6
5.2. Importance alimentaire.....	7
5.3. Importance agronomique.....	8

Chapitre II : Présentation de la bruche du niébé

1. Généralités.....	9
2. Caractères généraux des Bruchidae	9
3. La bruche du niébé : <i>Callosobruchus maculatus</i>	10
3.1. Position systématique	10
3.2. Origine et synonymie	10
3.3 Description de l'espèce	11
3.3.1. L'œuf	11
3.3.2. Larve.....	12
3.3.3. La nymphe.....	14
3.3.4. L'adulte	15
3.4. Cycle de développement	15
3.5. Dégâts causés par <i>C. maculatus</i>	17
4. Moyens de lutte	18
4.1. Les méthodes traditionnelles	18
4.2. La lutte chimique	19

4.2.1. Insecticides de contact.....	19
4.2.2. Les fumigants	19
4.3. La lutte biologique	20
5. Les huiles essentielles	20
5.1. Définition	20
5.2. Action des huiles essentielles contre les insectes.....	21

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Matériels.....	22
1.1. Matériel de laboratoire	22
1.2. Matériel biologique	23
1.2.1. Les bruches.....	23
1.2.2. Les graines du niébé.....	23
1.2.3. L'huile essentielle de Pin maritime	23
2. Méthodes	27
2.1. Elevage de masse	27
2.2. Test de répulsion	27
2.3. Test par inhalation	29
3. Analyse statistique des résultats	30

Chapitre IV : Résultats et discussions

1. Evaluation de l'effet insecticide par inhalation	31
2. Evaluation de l'effet insecticide par répulsion.....	36
Conclusion.....	39
Références bibliographiques.....	41

Liste des figures

Figure 1. Morphologie de la plante et des graines du niébé (MOUNSI, 2006)	6
Figure 2. Les œufs de <i>C. maculatus</i> pondus sur la graine de niébé (AIT AIDER., 2017) ...	11
Figure 3. Larve L1 de <i>C. maculatus</i> sous le chorion de l'œuf (AIT AIDER, 2017)	12
Figure 4. Larve L2 de <i>C. maculatus</i> (AIT AIDER, 2017)	13
Figure 5 : Larve L3 de <i>C. maculatus</i> (AIT AIDER, 2017)	13
Figure 6 : Larve L4 de <i>C. maculatus</i> (AIT AIDER, 2017)	13
Figure 7. Nymphes de <i>C. maculatus</i> (AIT AIDER, 2017)	14
Figure 8. Adultes de <i>C. maculatus</i> (A) Femelle et (B) Mâle (AIT AIDER, 2017)	15
Figure 9. Cycle biologique de <i>callosobruchus maculatus</i> (JALOUX, 2004)	16
Figure 10. Dégâts causés aux grains de niébés par <i>Callosobruchus maculatus</i> (ORIGINALE, 2019)	18
Figure 11. Matériels de laboratoire utilisé (ORIGINALE, 2019)	22
Figure 12. Morphologie de l'adulte du la bruche du niébé <i>Callosobruchus maculatus</i> (ORIGINALE, 2019)	23
Figure 13. L'arbre de pin maritime (ORIGINALE, 2019)	24
Figure 14. Huile essentielle de pin maritime (ORIGINALE, 2019)	25
Figure 15. Test de répulsion de l'huile essentielle du pin maritime à différentes doses à l'égard de <i>C. maculatus</i> (ORIGINALE 2019)	28
Figure 16. Test par inhalation sur les adultes de <i>C. maculatus</i> traités par différentes doses de l'huile essentielle de pin maritime (4ul, 6ul, 12ul et 18ul) (ORIGINALE, 2019).	29
Figure 17. Mortalité (en%) des adultes de <i>C. maculatus</i> traités par l'huile essentielle de pin maritime en fonction des doses et de la durée d'exposition.	31

Figure18 : Ajustement d'une droite de régression des moyennes de mortalité des adultes de *C. maculatus* en fonction du logarithme des doses soumis à l'action de l'huile essentielle de pin maritime par inhalation. 33

Figure 19. Taux moyens de répulsion des adultes de *C. maculatus* pour l'huile essentielle de pin maritime en fonction des doses. 36



Liste des tableaux

Tableau 1. Valeur alimentaire des graines de niébé (EHLERS, 1997)	7
Tableau 2 : Composition chimique de l'huiles esentielle de <i>P.pinaster</i> après analyse chromatographique en phase gazeuse	26
Tableau 3. Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc DONALD et al. (1970).	28
Tableau 4. Résultats de l'analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre mortalité des adultes de <i>C. maculatus</i> traités avec l'huile essentielle de pin maritime.	32
Tableau 5. Résultats du test de NEWMAN et KEULS pour l'effet de facteur dose de l'huile essentielle de pin maritime traité par inhalation sur mortalité des adultes de <i>C. maculatus</i>	32
Tableau 6. Résultats du test de NEWMAN et KEULS concernant l'effet de la durée d'exposition à l'huile essentielle de pin maritime après traitement par inhalation des adultes de <i>C. maculatus</i>	32
Tableau 7. Mortalités moyennes des insectes en pourcentage et en unités des Probits en fonction de des doses de Pin maritime par inhalation.	33
Tableau 8. Nombre moyen de bruches recensées dans les parties traitées et non traitées et le pourcentage de répulsion de l'huile essentielle pin maritime.	37
Tableau 9. Résultats de l'analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre pourcentage de répulsion des adultes de <i>C. maculatus</i> traités avec l'huile essentielle de pin maritime.	37



Introduction

Les légumineuses alimentaires constituent une très grande importante source de protéines végétales qui peut corriger le déficit en protéines animales notamment dans les pays pauvres ou en voie de développement. Elles sont riches en minéraux essentiels et en lysine, de ce fait, elles sont complémentaires des profils nutritionnels des céréales et elles ont un usage médicinal non négligeable (**DURANTI et GIUS, 1997**).

En plus de leur importance dans le régime alimentaire humain et animal, les légumineuses ont un intérêt particulier dans le concept de l'agriculture durable. Leur introduction dans l'assolement instaure la rotation des cultures, la diversification des productions et la protection du sol contre l'érosion. L'introduction de ces espèces dans un système de culture est, impérativement, tributaire de l'amélioration de leurs performances agronomiques (**BEN MBAREK, 2011**).

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 (60 à 65%), représente l'une des meilleures et des moins onéreuses solutions qui peut contribuer de manière significative à la sécurité alimentaire mondiale.

En Algérie, le niébé est communément appelé Lubia Kabyle en Kabylie, Tadelaght dans les Oasis du Sud ou Lubia Arebi dans la région d'El Kala. Il est traditionnellement cultivé et consommé dans certaines régions telles que la Kabylie, la zone Est de la Wilaya d'El Taref et les Oasis du Sahara. Il est utilisé dans l'art culinaire traditionnel de ces régions où on lui attribue parfois des vertus thérapeutiques. (**GHALMI et al., 2005**). En Algérie, la culture des Légumineuses a un intérêt national, car elle doit permettre de satisfaire les besoins alimentaires, réduire les importations et limiter la dépendance économique vis-à-vis de l'étranger (**ZAGHOUE, 1997**).

Malheureusement, les graines de légumineuses, y compris le niébé, sont généralement attaquées par des insectes, des champignons et des rongeurs. Mais les pertes dues aux insectes sont les plus importantes dans les pays où les techniques modernes de stockage ne sont pas encore introduites. Les coléoptères Bruchidae, dont les larves ne consomment et ne se développent que dans les graines (**CASWELL, 1960**), ont été l'une des très rares familles à avoir colonisé les graines mûres des légumineuses. Parmi elles, la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* qui est un insecte nuisible et dangereux qui s'attaque à sa plante hôte *Vigna unguiculata* à la fois au champ et au stock et elle est considérée actuellement parmi les ravageurs les plus redoutables au niébé.

L'importance de ces dommages a amené les agriculteurs à recourir à plusieurs méthodes de préservation de leurs stocks. Parmi les moyens utilisés, la lutte chimique qui reste à court et à moyen terme, efficace pour assurer une protection effective des stocks (**NYMADOR, 2010**). La fumigation est la mieux adaptée pour traiter à la fois les formes externes (adultes et œufs) et les formes qui se développent à l'intérieur de la graine (Larves et nymphes) (**ZETTLER et ARTHUR, 2000**). Ces fumigants synthétiques agissent à l'état de gaz mais sont commercialisés sous forme de pastilles comme la phosphine (phosphore d'hydrogène) et le bromure de méthyle (**SINGH et al., 1990**).

Une autre classe d'insecticides, agissant par contact, sont des produits de synthèse qui pénètrent dans les tissus de l'insecte. Le plus recommandé dans la plupart des pays africains est la deltaméthrine. Cependant, dans les milieux ruraux de certains pays africains, les paysans continuent à avoir recours à des produits prohibés depuis plusieurs années comme le DDT et le Lindane qui sont des composés organochlorés (**Yamador, 2010**). Malheureusement, 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 ; JUC, 2008**).

La recherche de nouvelles méthodes de lutte efficaces contre les insectes ravageurs et bénéfiques pour la santé humaine et pour l'environnement s'impose. De nos jours, de nombreuses études sont faites et d'autres se développent et les produits naturels offrent beaucoup de possibilités dont les plantes aromatiques qui recèlent de nombreuses activités biocides et plus particulièrement insecticides (**LICTHENSTEN, 1966**).

Bien qu'elles soient présentes en faibles quantités dans les plantes, les huiles essentielles sont des molécules à forte valeur ajoutée dotées d'une activité biologique et

olfactive importante et peuvent, par conséquent, constituer une alternative à la lutte classique (JOUANAULT, 2012).

Dans ce contexte, notre étude vise comme objectif essentiel l'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle du pin maritime (*Pinus pinaster* L.) sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* par inhalation et par répulsion.

Notre travail est scindé en plusieurs chapitres. Les chapitres I et II traitent de la plante hôte (*Vigna unguiculata*) et de l'insecte ravageur (*Callosobruchus maculatus*). Le chapitre III présente le matériel utilisé et les méthodes adoptées et le chapitre IV étaye les résultats obtenus et leur discussion terminés par une conclusion et quelques perspectives de recherche.

***Présentation de
la plante hôte***

Le niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] est l'une des principales légumineuses alimentaires mondiales (**PASQUET et BAUDOIN, 1997**). En Afrique, c'est un aliment de base apprécié pour ses feuilles, ses gousses vertes et ses graines sèches, qui peuvent être consommées et commercialisées (**ISRA et al., 2005**).

1. Position systématique du niébé

Selon **CRONQUIST (1981)**, la systématique de *V. unguiculata* est la suivante :

Règne : Plantae
Sous règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Sous classe : Rosidae
Ordre : Rosales
Famille : Fabaceae
Genre : *Vigna*
Espèce : *Vigna unguiculata* (L.) Walp., 1843.

2. Origine et répartition géographique

Le niébé, *V. unguiculata*, est la plus importante légumineuse à graines cultivée 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^{ème} siècle par les espagnols, le niébé est également cultivé aux Etats Unis, aux Caraïbes et au Brésil (**MADAMBA et al., 2006**). Cette espèce est appelée communément niébé en Afrique, cowpea en Amérique, dolique en Europe. En Algérie, il est appelé haricot Kabyle au Nord, Tadelaght au Sud Ouest, Metlili et Tidellaghine à Ouargla (**AIT AIDER, 2017**). **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 à réniformes ;
- Variété *sesquipedalis*, haricot kilomètre, à gousses pendantes de 1m de long et à graines allongées réniformes ;
- Variété *cylindrica* ou *catjang* à gousses courtes érigées et petites graines oblongues ou cylindriques.

3. Botanique du niébé

V. unguiculata est une plante herbacée annuelle autogame diploïde ($2n=22$) présentant de nombreuses variétés à port rampant, semi-rampant ou érigé (Figure 1). L'inflorescence, de type grappe simple ou racème, est composée de fleurs de type corolle papilionacée, jaunes ou violacées. Le fruit est une gousse indéhiscente, longue de 7 à 15 cm, renfermant 8 à 15 graines. A la jonction avec le pédoncule, des nectaires sécrètent un liquide sucré qui coule le long de la gousse (MURDOCK, 1959).

D'après MADAMBA et al. (2006), 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. 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.

Selon le même auteur, les couleurs variétales oscillent du blanc, marron, rougeâtre ou presque noir au grivelé ou bariolé irrégulièrement tacheté. Certaines variétés ont spécifiquement une tâche noire 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.



Figure 1. Morphologie de la plante et des graines du niébé (MOUNSI, 2006)

4. Ecologie du niébé

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. C'est une espèce tolérante à la sécheresse et à la salinité du sol et 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 (SKERMAN, 1982).

5. Importance du niébé

5.1. Importance économique

Le niébé est la plus importante légumineuse à graine en Afrique, il est cultivé et consommé extensivement dans plusieurs pays et représente un important légume vert et une précieuse source de fourrage (SINGH, 2002). L'Afrique est la première région consommatrice et productrice du niébé avec un taux de production de 94% de la production mondiale ; cette dernière représentait 5,68 millions de tonnes en 2009 avec une superficie cultivée de 11,8 millions d'hectares dont 10 millions sont réalisés en Afrique (FAOSTAT, 2010). Le Nigéria est le premier producteur mondial avec 2,3 millions de tonnes et une superficie cultivée de 5,3 millions de Ha (GHALMI et al., 2005).

En Algérie, les superficies cultivées du niébé sont très restreintes, retrouvées au niveau de certaines exploitations agricoles familiales dans des régions telles que la Kabylie, la zone Ouest de la wilaya d'El Taref et les oasis du Sahara. Les graines du niébé sont produites pour

la consommation domestique et le surplus est vendu sur des marchés locaux (GHALMI, 2010).

5.2. Importance alimentaire

Le niébé est le légume favori des régions d'Afrique, cultivé pour ses grains secs ainsi que ses feuilles, ses gousses et ses graines immatures (MADAMBA *et al.*, 2006). Il procure les éléments nutritifs déficients chez les céréales. C'est un aliment riche en protéines, vitamines et minéraux (Tableau 1).

De plus, ses fanes constituent un fourrage précieux pour le bétail en raison de leur haute teneur en protéines (TIMKO *et al.*, 2007). Le niébé est considéré aussi comme une plante médicinale car ses feuilles et graines sont utilisées pour le traitement des enflures et des infections de la peau ainsi d'autres maladies dentaires ou bien des piqûres d'insectes (MADAMBA *et al.*, 2006).

Tableau 1. Valeur alimentaire des graines de niébé (EHLERS, 1997)

Constituants	Proportions	Principaux acides	Proportions
Eau	11 %	Lysine	6,6
Protéines	23,4 %	Cystéine	0,99
Carbohydrates	56,89 %	Histidine	3,3
Acides gras	1,3 %	Tryptophane	4,1
Fibres	1,3 %		
Calcium	90 mg/100g		
Fer	5,7 mg/100g		
Acide nicotinique	2 mg/100g		
Vitamine A	32,42 mg/100g		
Vitamine D	26-78,02 mg/100g		

5.3. Importance agronomique

L'importance agronomique du niébé se situe dans les systèmes de production animale et céréalière des régions semi-arides. Il est cultivé en association avec le mil, le sorgho, le maïs ou les arachides (**QUIN, 1997**) en raison de l'apport d'azote qu'il peut apporter comme engrais vert avec le maïs particulièrement (**LATATI et al., 2014**) et de l'apport organique pour les céréales. Il empêche ainsi la dégradation des sols cultivés comme il est considéré comme un composant important dans les systèmes de production pour sa grande capacité de fixation d'azote et sa symbiose avec les champignons mycorhizogènes (**MARTINS et al., 2003**).

***Présentation de la
bruche de niébé***

1. Généralités

L'importance des dommages causés par les Coléoptères dans les grains est en liaison directe avec leur comportement alimentaire. Les ravageurs les mieux adaptés aux perturbations mécaniques qui ont lieu en cours de stockage vivent à l'intérieur des grains où simplement ne savaient se passer des grains pour vivre (**LEPESME, 1944**).

Les insectes phytophages représentent aujourd'hui plus de la moitié de toutes les espèces d'insectes décrites (**STRONG et al., 1984**). Parmi les neuf ordres d'insectes comprenant des espèces phytophages, les Coléoptères présentent la plus importante diversité. Les phytophages, une catégorie des Coléoptères, comprennent en effet plus de 100 000 espèces (**FARRELL, 1998**). Parmi celles-ci, 1700 appartiennent à la famille des Bruchidae (**ALVAREZ, 2004**).

2. Caractères généraux des Bruchidae

Les différentes espèces de cette famille sont réparties en une soixantaine de genres (**BOROWIEC, 1987**). Les adultes mesurent 1.5 à 5 mm de longueur, le corps est large, pubescent, la tête est bien dégagée et le menton pédonculé. Les antennes insérées près des yeux ne sont pas filiformes. Les élytres recouvrent incomplètement l'abdomen (**HOFFMAN, 1945**). Les pattes postérieures sont toujours plus développées que les autres pattes avec des fémurs fréquemment dilatés ou renflés. Les ailes sont fonctionnelles chez presque toutes les espèces de cette famille (**LABEYRIE, 1962**). Les larves ont un régime cléthrophage, car elles vivent exclusivement dans les graines (**AVIDOV et al., 1965**). Le premier stade est apode, dépourvu de pattes et de soies aidant aux déplacements. Pour la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus*, les larves sont mobiles et cela leur permet, après l'éclosion, de se diriger à la recherche d'une graine adéquate pour s'y installer (**BOUGHADAD et al. 1986**).

Selon **DELOBEL et TRAN (1993)**, la famille des Bruchidae comprend deux groupes ; le premier renferme les bruches se développant dans les champs, dans les graines encore vertes et qui ont une seule génération annuelle (espèces univoltines) comme *Bruchus pisorum* (la bruche du pois), *Bruchus rufimanus* (la bruche de la fève) ou *Bruchus lentis* (la bruche des lentilles). Le deuxième groupe renferme les bruches qui se multiplient à l'intérieur des entrepôts, dans les graines sèches. Elles ont plusieurs générations annuelles (espèces polyvoltines) et c'est le cas de *Callosobruchus maculatus* (la bruche du niébé),

Callosobruchus chinensis (la bruche chinoise), *Acanthoscelides obtectus* (la bruche du haricot), *Caryedon serratus* (la bruche de l'arachide) et *Bruchidus atrolineatus* (la bruche africaine du niébé).

3. La bruche du niébé : *Callosobruchus maculatus*

3.1. Position systématique

Selon **BALACHOWSKY (1962)**, la position systématique de la bruche de niébé est comme suit :

Règne : Animal

Embranchement : Arthropodes

Classe : Insectes

Ordre : Coleoptera

Sous ordre : Heterogastrea

Famille : Bruchidae

Sous famille : Bruchinae

Genre : *Callosobruchus*

Espèce : *Callosobruchus maculatus* (Fabricius).

Actuellement la famille des Bruchidae est considérée comme non valide, les bruches sont considérées comme formant la sous famille des Bruchinae, au sein de la famille des Chrysomelidae (**SCHMITT, 1998**).

3.2. Origine 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**).

3.3 Description de l'espèce

C'est un insecte de petite taille (2,8 - 3,5 mm) dont le corps est de forme oblongue de couleur brun rougeâtre à gris où les femelles ont une taille plus importante que les mâles. A l'état adulte, *C. maculatus* est une espèce dimorphique. Il existe deux formes en fonction de la coloration et les motifs des élytres et du pygidium, l'aptitude au vol et la fécondation, ce sont la forme volière ou active et la forme non volière ou normale (CASWELL, 1961 ; UTIDA, 1981).

La forme volière ou active est à fécondité faible soit 10 à 15 œufs par femelle (GLITHO et al. 1988 ; DELOBEL et TRAN, 1993). Elle est capable de voler et est responsable de l'infestation dans les cultures. Généralement elle est grande de taille et la coloration rousse est souvent absente ; les facteurs déterminant l'apparition de cette forme sont la température, la qualité du substrat trophique et l'humidité des graines (OUEDRAOGO, 1996). La forme non volière ou normale; à fécondité élevée, est caractérisée par son incapacité au vol due à ses muscles alaires atrophiés (OUEDRAOGO et al. 1996) ; cette forme est adaptée aux conditions de stockage.

3.3.1. L'œuf

Il 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 (Figure 2). 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. 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).



Figure 2. Les œufs de *C. maculatus* pondus sur la graine de niébé (AIT AIDER., 2017)

3.3.2. Larve

Le cycle de développement de *C. maculatus* passe par 4 stades larvaires :

- **Larve du 1er 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 (Figure 3). 24 à 48 heures après éclosion, elle pénètre dans la graine où elle se développe dans l'épaisseur du cotylédon.

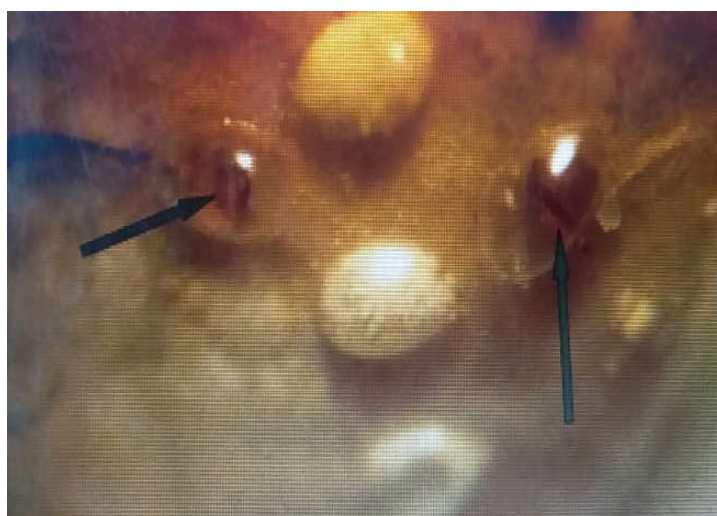


Figure 3. Larve L1 de *C. maculatus* sous le chorion de l'œuf (AIT AIDER, 2017)

- **Larve du 2ème 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 (Figure 4). Elle grandit et élargit la galerie en une logette où se déroulera la prochaine mue.
- **Larve du 3ème stade (L3):** elle est apode comme la L2 (Figure. 5). Elle continue à agrandir la galerie en une 2ème logette où elle grossit énormément et mue.
- **Larve du 4ème stade (L4):** elle ne diffère de la L2 et de la L3 que par la taille (Figure 6). Elle poursuit son accroissement, grossit en creusant une 3ème logette où aura lieu la nymphose.



Figure 4. Larve L2 de *C. maculatus* (AIT AIDER, 2017)

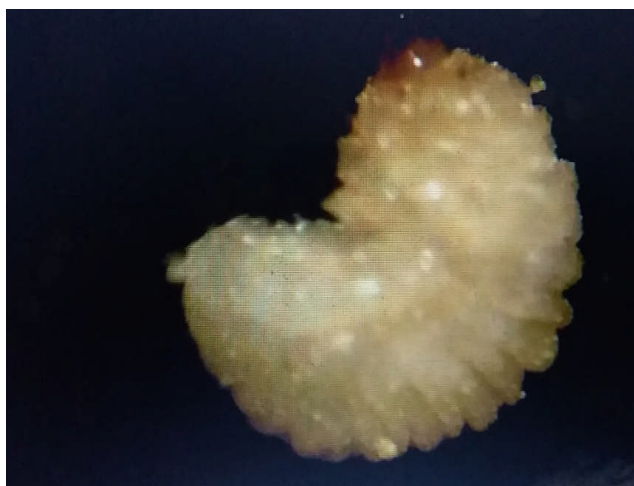


Figure 5 : Larve L3 de *C. maculatus* (AIT AIDER, 2017)

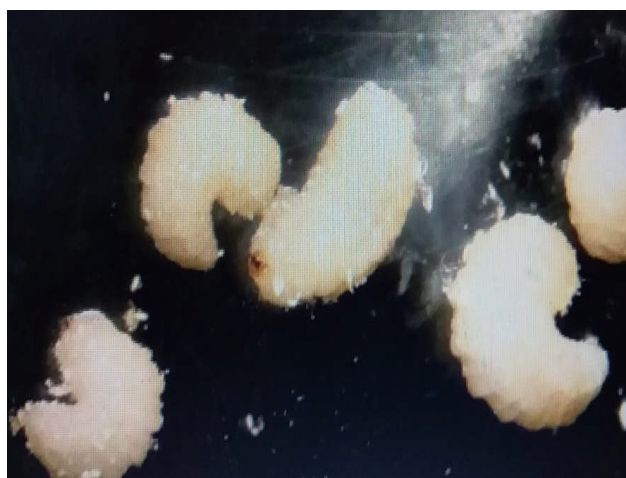


Figure 6 : Larve L4 de *C. maculatus* (AIT AIDER, 2017)

3.3.3. La nymphe

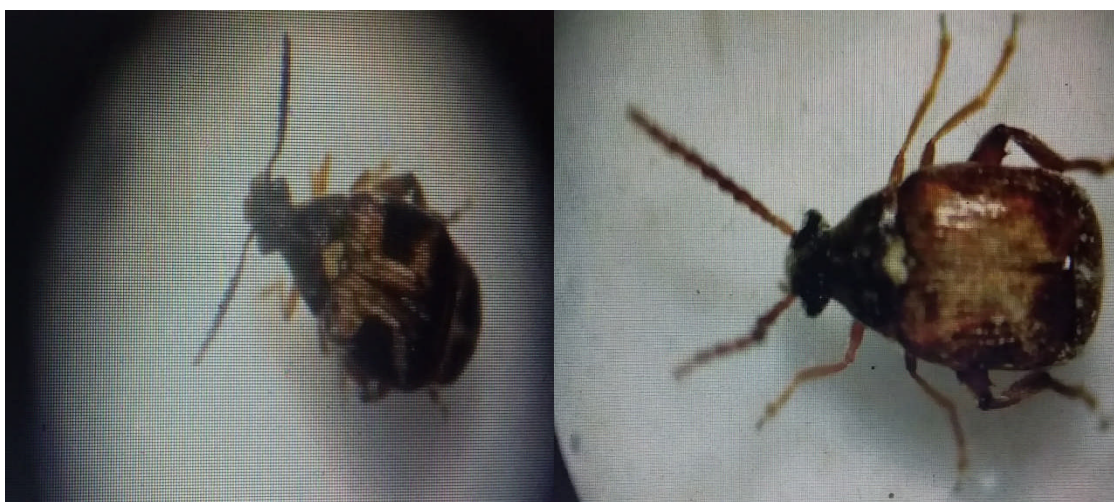
Elle est au départ blanchâtre et portant encore sur sa face ventrale l'exuvie de la larve du 4ème stade. Par la suite, ses organes se sclérifient progressivement pour donner l'imago (Figure 7). La nymphose a lieu dans la logette construite par la L4 (la 3ème logette). Avant d'émerger, l'imago reste dans cette logette 24 à 48 heures.



Figure 7. Nymphes de *C. maculatus* (AIT AIDER, 2017)

3.3.4. 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 (Figure 8). *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 5ème 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*B) Mâle de *C. maculatus***Figure 8.** Adultes de *C. maculatus* (A) Femelle et (B) Mâle (AIT AIDER, 2017)

3.4. Cycle de développement

Le cycle de développement de *C. maculatus* est en fonction de la température et de l'humidité (30°C et 70 %) de milieu. Après l'accouplement, les femelles pondent sur les gousses en voie de maturation ou directement sur les graines. Les œufs pondus seront fixés par les femelles avec une substance gélatineuse, lors de la ponte, une phéromone de marquage est déposée en même temps que l'œuf, elle permet à la femelle d'éviter les grains fortement infestés, et de réduire ainsi les compétitions inter – larvaire (DELOBEL et TRAN, 1993). La moyenne des pontes varie entre 75 et 100 œufs par la femelle (LARSON, 1924).

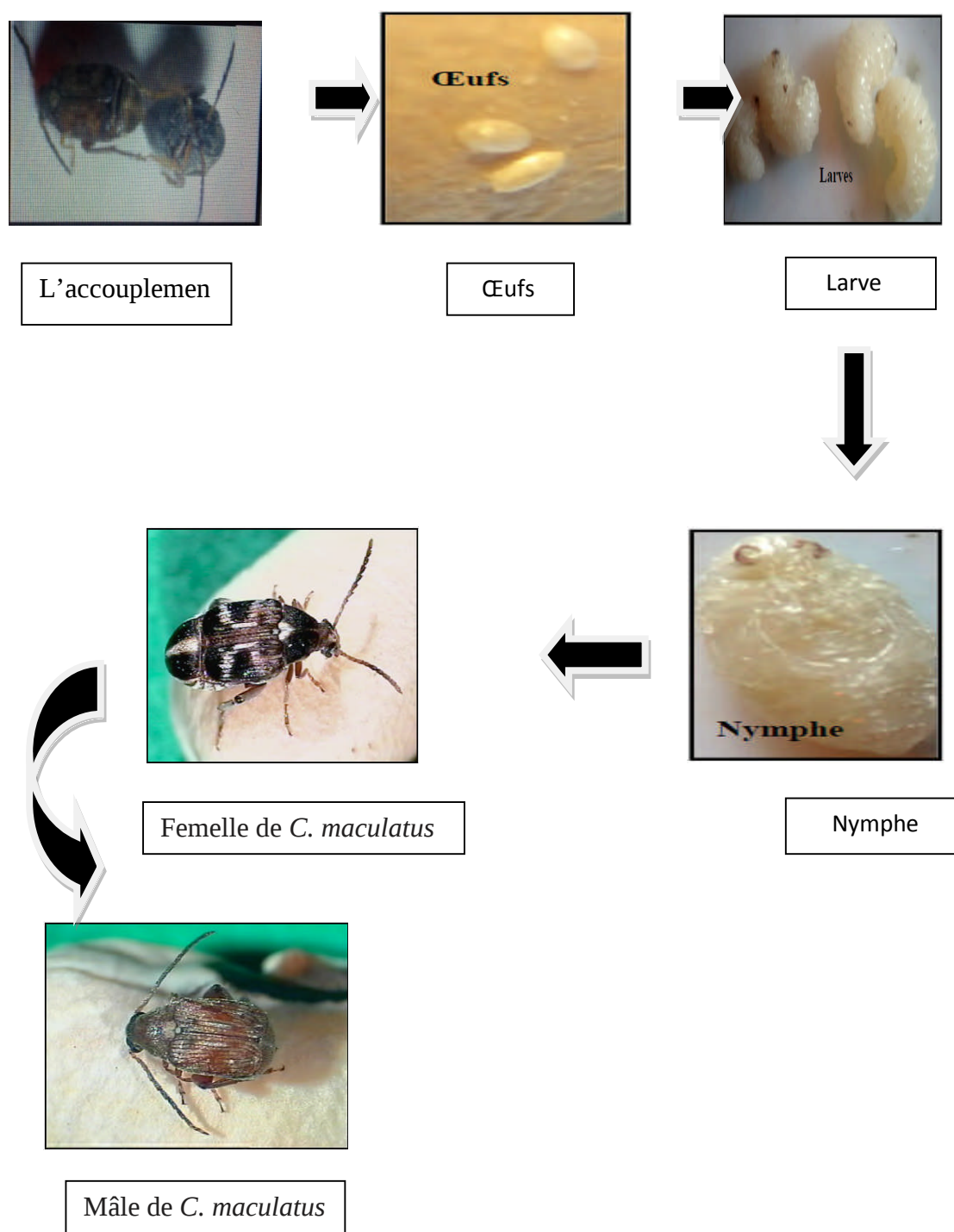


Figure 9. Cycle biologique de *Callosobruchus maculatus* (JALOUX, 2004)

L'éclosion des œufs survient 5 à 7 jours après la ponte dans les conditions favorables, la larve qui ne possède pas encore de pattes motrices perfore la paroi externe de l'enveloppe de la gousse ou du tégument de la graine et rentre à l'intérieur (FOX, 1994).

La larve peut accéder directement aux réserves nutritives de la graine au niveau des gousses, la jeune larve peut échouer dans le vide (espace inter- grain) ou déboucher, au cours de son transit trophique, sur un petit grain à faible réserve ne pouvant lui permettre d'atteindre le stade final de développement.

La nymphose dure 7 jours chez *C. maculatus* (DELOBEL et TRAN, 1993). Elle se déroule à l'intérieur d'un seul grain. L'adulte émerge dans la graine pour commencer un nouveau cycle de vie après avoir traversé la fenêtre de la sortie préparée par la larve.

3.5. 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, et durant leurs entrepôts. 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 d'entreposage, 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 de cotylédons des graines. Les signes d'infestation sont les trous de sortie des insectes ayant un diamètre de 2,5 mm (Figure.10) (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).



Figure 10. Dégâts causés aux grains de niébés par *Callosobruchus maculatus*
(ORIGINALE, 2019)

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. La bruche du niébé 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.

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:

4.1. Les méthodes traditionnelles

Elles consistent en:

- Un ramassage des graines à un stade phénologique précoce, une récolte régulière des gousses dès leur maturités, 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 posséder une action physique quelque peu répulsive voire même insecticide (**AIT AIDER, 2017**).
- 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 sont également préconisés. Un stockage hermétique des graines dans des sacs en plastique suffisamment résistant aux déchirures est impraticable. Les sacs en polypropylène ayant une doublure en coton ont donné des résultats satisfaisants (**CASWELL et VANHUIS, 1991 in LIENARD et SECK, 1994**).

4.2. La lutte chimique

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:

4.2.1. Insecticides de contact

Ce sont des produits de synthèse qui pénètrent dans les tissus de l'insecte et ont un effet toxique par contact, ils sont commercialisés sous forme de poudre ou de solution à pulvériser (**CRUS et al. 1988**).

4.2.2. Les fumigants

Ce sont des insecticides à haute tension de vapeur qui agissent à l'état de gaz mais sont commercialisés sous formes de pastilles comme la phosphine et le bromure de méthyle (**SINGH et al. 1990**). La fumigation est la mieux adaptée pour traiter à la fois des formes externes (adultes et œufs) et la formes qui se développent à l'intérieur de la graine (**ARTHUR, 2000**). Dans les pays chauds, la phosphine (PH₃) est le fumigant le plus régulièrement utilisé et s'avère très opérant contre les oeufs 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).

4.3. La lutte biologique

La lutte biologique dans les stocks utilise des prédateurs d'insectes, des microorganismes et des parasitoïdes. L'utilisation de ces derniers offre plusieurs avantages : ils ont une bonne capacité de dispersion et de découverte de l'hôte, une bonne capacité à s'établir dans un habitat donné, ils sont très sécuritaires pour la santé des utilisateurs et des consommateurs, ils respectent l'environnement et ils ont, pour la plupart, une grande Spécificité (CLOUTIER et CLOUTIER, 1992). Des efforts sont également fournis pour développer de nouveaux composés naturels comme substituant aux substances chimiques couramment utilisés. L'exploitation de matières premières renouvelables d'origine végétale pour la fabrication de bio-insecticides correspond à la nécessité de répondre aux réalités environnementales actuelles telles que la lutte contre l'effet de serre, la réduction de la pollution, un faible effet toxicologique et la biodégradabilité du produit (HERNANDEZ-OCHOA, 2005).

Parmi les molécules à fortes valeur ajoutées, mais présentes en faibles quantités et dotées d'une activité biologique et olfactive, citons les huiles essentielles (JOUAULT, 2012).

5. Les huiles essentielles

5.1. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters, les cétones (ISMAN, 2002). Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (CSESK et KAUFMAN, 1999).

L'huile essentielle, appelée aussi essence, est une substance odorante, volatile, inflammable, incolore ou jaunâtre ou même verdâtre dont la 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). 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 dès l'antiquité pour leurs propriétés médicinales. Elles ont constitué petit à petit un outil remarquable de défense contre les insectes nuisibles en général et ceux des denrées stockées en particulier (KEITA et al., 2001).

Elles ont un effet antiseptique et antifongique. Certaines huiles essentielles dont les constituants principaux possèdent des propriétés répulsives ou dissuasives bien connues, sont utilisées depuis longtemps pour la protection du grain entreposé (REGNAULT- ROGER et al., 1993). Il est important de faire la différence entre les huiles essentielles et les huiles végétales. Les huiles essentielles sont obtenues par expression ou par distillation à la vapeur d'eau. Elles sont volatiles, solubles dans l'alcool et dans l'huile, mais pas dans l'eau. Ce sont des substances odorantes. Par contre, une huile végétale est obtenue par pression et est constituée majoritairement de corps gras (FANNY, 2008).

5.2. Action des huiles essentielles contre les insectes

Les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovicide, larvicide et adulticide à l'égard de différents ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés poly-phénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (REGNAULT- ROGER et al., 2002). Différents travaux font référence à l'utilisation d'huiles essentielles pour la protection des denrées stockées contre les insectes ravageurs. Le limonène agit contre différents ravageurs (IBRAHIM et al., 2001).

Selon NGAMOL et HANCE (2007), les constituants des huiles essentielles sont des sources potentielles d'insecticides botaniques. Plusieurs constituants sont insecticides ; le safrole et l'eugénol ont des fortes activités insecticides sur les ténébrions et surtout le *Tribolium castaneum* ainsi que sur la bruche du haricot.

D'après REGNAULT- ROGER et al. (2002), les propriétés insecticides des huiles essentielles agissent sous différentes formes :

- Une toxicité par inhalation par leur richesse en composés volatils.
- Une toxicité par contact qui provient de la formation d'un film imperméable sous forme de cuticule isolant l'insecte de l'air et provoquant son asphyxie.

***Matériels et
méthodes***

1. Matériels

1.1. Matériel de laboratoire

Le matériel utilisé pour nos essais est de nature variée :

- Etuve réglée à une température $30 \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité relative à $70 \pm 5\%$;
- Boîte de Pétri en plastique de 8,5cm de diamètre et 1cm de hauteur ;
- Des bocaux en verre (de 12cm de hauteur et 11cm de diamètre) pour l'élevage de masse du bruche du niébé et des flacons en verre de 125 ml de volume pour le traitement par inhalation avec l'huile essentielle ;
- Micropipette (0,2-2,5ul) pour le prélèvement des huiles essentielles ;
- Papier filtre (disque de 2cm de diamètre pour le teste d'inhalation et de 9,5cm de diamètre pour le test de répulsion) ;
- Une loupe binoculaire ($G \times 20$) pour observer les différents stades de développement ;
- L'acétone pour la dilution des huiles essentielles ;
- Autres accessoires : tamis en plastique, pinceaux, ciseaux, rouleau adhésif, petite pelle en plastique, fil.



Balance de précision



Loupe binoculaire



Étuve réfrigérée



Acétone

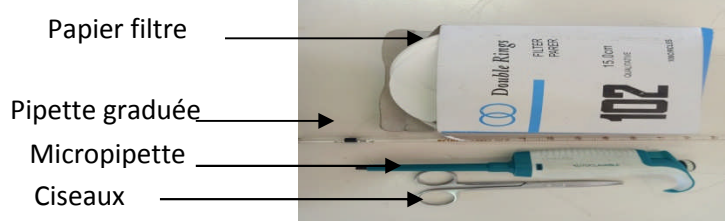


Figure 11. Matériels de laboratoire utilisé (ORIGINALE, 2019)

1.2. Matériel biologique

1.2.1 Les bruches

L'espèce utilisée durant notre expérimentation est la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* F.) ; elle provient des élevages de masse réalisés au sein de notre laboratoire (Figure 12).



Figure 12. Morphologie de l'adulte de la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (ORIGINALE, 2019)

1.2.2. Les graines du niébé

Les graines saines de pois chiche utilisées pour l'élevage de masse proviennent du marché local (Tizi-Ouzou). Il s'agit des graines saines lavées, séchées et conservées à 4°C avant utilisation.

1.2.3. L'huile essentielle de pin maritime

L'huile essentielle testée durant cette étude est celle de la Pin maritime (*Pinus pinaster*) proviennent du marché local.

a) Description de la plante

Le Pin maritime *Pinus pinaster* Aiton de la famille des Pinaceae est un arbre monoïque, à croissance initiale rapide et à port droit (Figure 13). La durée de vie oscille entre 40 et 50 ans (ANONYME, 2003). C'est un arbre d'assez grande taille, résineux qui peut dépasser 20 mètres de hauteur avec une cime étalée et peu compacte, son tronc est recouvert d'une écorce, très épaisse et profondément crevassée est brun violacé (DOMINIQUE, 2007).

Les rameaux, verticillés et étalés, forment au sommet de l'arbre un gobelet pyramidal s'arrondissant à maturité. Ils portent de gros bourgeons ovoïdes et non résineux

(ANONYME, 2003). Les aiguilles, groupées par deux, sont vert foncé et très longues (10 à 20 cm), la floraison du pin maritime a lieu en Avril Mai. Les fruits sont des cônes très gros (10 à 18cm de long) (DOMINIQUE, 2007).

Le pin maritime a une aire assez étendue dans les régions de la Méditerranée occidentale et la façade atlantique du sud ouest de l'Europe. En Afrique du Nord, il existe des massifs isolés le long du littoral Algéro-Tunisien, dans les régions de Bejaia, Jijel, Collo, Annaba ou il se rencontre jusqu'à 700 m d'altitude (OUAHID, 2001).



Figure 13. L'arbre de pin maritime (ORIGINALE, 2019)

b) Classification de la plante

D'après CRONQUIST (1981), le pin maritime appartient à :

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Coniferophyta
Classe	Pinopsida
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermes
Ordre	Coniférales
Sous ordre	Abiétales
Famille	Pinacées
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus pinaster</i> L.

c) L'huile essentielle

L'huile essentielle utilisée dans notre expérimentation est extraite des aiguilles de pin maritime. Elle est obtenue par distillation par entraînement à la vapeur d'eau, des rameaux fraîchement taillés, récoltés en Algérie. C'est une huile 100% pure et naturelle, distillée en Juin 2015 la N° de lot et 01/2015.

•Propriétés organoleptiques :

- Aspect : liquide mobile limpide
- Couleur : incolore
- Odeur : fraîche, boisée, gin, camomille, fruité, genièvre

•Analyses physico-chimiques :

- Densité à 20°C : 0,8599
- Indice de réfraction à 20°C : 1,4788
- Pouvoir rotatoire : -2,90°C
- Point éclair : 53°C



Figure 14. Huile essentielle de pin maritime (ORIGINALE, 2019)

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse fait ressortir un total de 17 composés avec 3 composés majoritaires : le Myrcène (27,5%), le Pinène alpha (21,7) et le Caryophyllène beta trans (10%) (Tableau 2).

Tableau 2 : Composition chimique de l'huiles essentielle de *P.pinaster* après analyse chromatographique en phase gazeuse.

Composés principaux	Pourcentage
Pinene alpha	21,7
Pinene beta	2,0
Sabinene	2,5
Delta- 3-carene	2,7
Myrcene	27,5
Terpinolene	9,0
Limonene	1,0
Phellandrene beta	0,9
Terpinene gamma	1,8
Ocimene trans	1,0
Caryophyllene beta trans	10,0
4-Terpineol	1,3
Humulene alpha	2,0
Geranyl acetate	0,9
Isocaryophyllene eposcyde	1,1
Phenylethyl hescanoate	6,8
Guaiol	0,3

2 .Méthodes

2.1. Élevage de masse

Dans des bocaux en verre de 12cm de hauteur et 11cm de diamètre, un élevage de masse a été lancé comme suit :

- Mettre en contact les bruches adultes mâles et femelles d'âges inconnu avec les graines de *Vigna unguiculata* non traitées issues du marché local ;
- Les bocaux sont placés dans une étuve, réglée à une température de 27°C et une humidité relative de 75% pour accélérer l'élevage de masse ;

Le but de cet élevage est l'obtention d'un nombre suffisant d'adultes de *C. maculatus* âgés entre 0 et 24 heures nécessaires pour les différentes expérimentations. L'obtention des premiers individus adultes (âgés entre 0 et 24 heures) nécessite un temps moyen de 30 à 40 jours d'incubation.

2.2. Test de répulsion

Ce test consiste à étudier l'effet répulsif de l'huile essentielle de pin maritime sur les adultes de *Callosobruchus maculatus*. Pour le réaliser, nous avons suivi les étapes suivantes (Figure 15) :

- Découpage en deux parties égales d'un disque de papier filtre de 9 cm de diamètre ;
- Préparation de Cinq doses différentes de l'huile essentielle de pin maritime : 2µl; 4µl ; 6µl ; 8µl et 10µl diluées dans l'acétone.
- Pour chaque dose un demi-disque est traité avec la dose d'huile essentielle diluée dans 0,2 ml d'acétone et le deuxième ne reçoit que 0,2 ml d'acétone.
- Après évaporation de l'acétone, nous rassemblons les deux parties traitées par une bande adhésive et nous les plaçons dans une boîte de Pétri.
- Dix bruches adultes de *C. maculatus* âgées de 0 à 24h sont ensuite disposées au centre de la boîte.
- Quatre répétitions sont réalisées pour l'huile essentielle.
- Après 30 minutes de traitement, le nombre d'insectes présents dans la partie traitée avec de l'huile essentielle et le nombre d'individus présents dans la partie traitée uniquement avec de l'acétone sont notés.

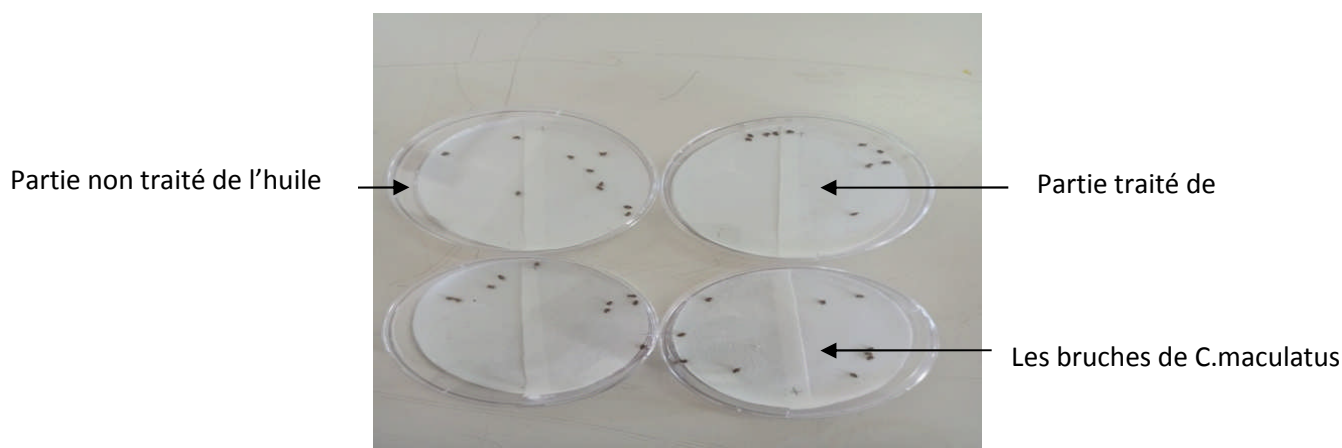


Figure 15. Test de répulsion de l'huile essentielle du pin maritime à différentes doses à l'égard de *C. maculatus* (ORIGINALE 2019)

Le pourcentage de répulsion est calculé comme suit :

$$PR\% = \frac{N_c - N_t}{N_c + N_t} \times 100$$

N_c : le nombre d'insectes présents sur la partie de disque traité uniquement avec de l'acétone.

N_t : le nombre d'insectes présents sur la partie de disque traité avec la solution (huile essentielle- acétone).

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile est calculé et attribué à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V (MC DONALD *et al.*, 1970), qui sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau 3. Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc DONALD *et al.* (1970).

Classe	Intervalle de répulsion	Propriété de la substance Traitée
Classe 0	$0 \text{ PR} \leq 0,1 \%$	Non répulsive
Classe I	$0,1 < \text{PR} \leq 20 \%$	Très faiblement répulsive
Classe II	$20 < \text{PR} \leq 40 \%$	Faiblement répulsive
Classe III	$40 < \text{PR} \leq 60 \%$	Modérément répulsive
Classe IV	$60 < \text{PR} \leq 80 \%$	Répulsive
Classe V	$80 < \text{PR} \leq 100 \%$	Très répulsive

2.3. Test par inhalation

Le test consiste à étudier l'effet par inhalation de l'huile essentielle du pin maritime sur les adultes de *C. maculatus*.

Dans des bocaux en verre, une dose d'huile essentielle est disposée sur des disque de papier filtre de 2cm de diamètre qui sont fixés par un fil à la face interne des couvercles. Différentes doses de l'huile essentielle de pin maritime : 4 μ l, 6 μ l, 12 μ l et 18 μ l sont diluées dans 0,1ml d'acétone (Figure 16).

Parallèlement, un témoin n'ayant pas reçu l'huile essentielle est réalisé uniquement avec de l'acétone.

Cinq couples (mâles et femelles) de bruches âgés de 0 à 24h ont été introduits dans chaque bocal. Quatre répétitions sont réalisées pour les différents traitements et pour le témoin.

Après chaque temps d'exposition, **1H, 2H, 3H, 24h, 48h, 72h et 96 h**, le comptage des insectes morts est effectué sous une loupe à main.

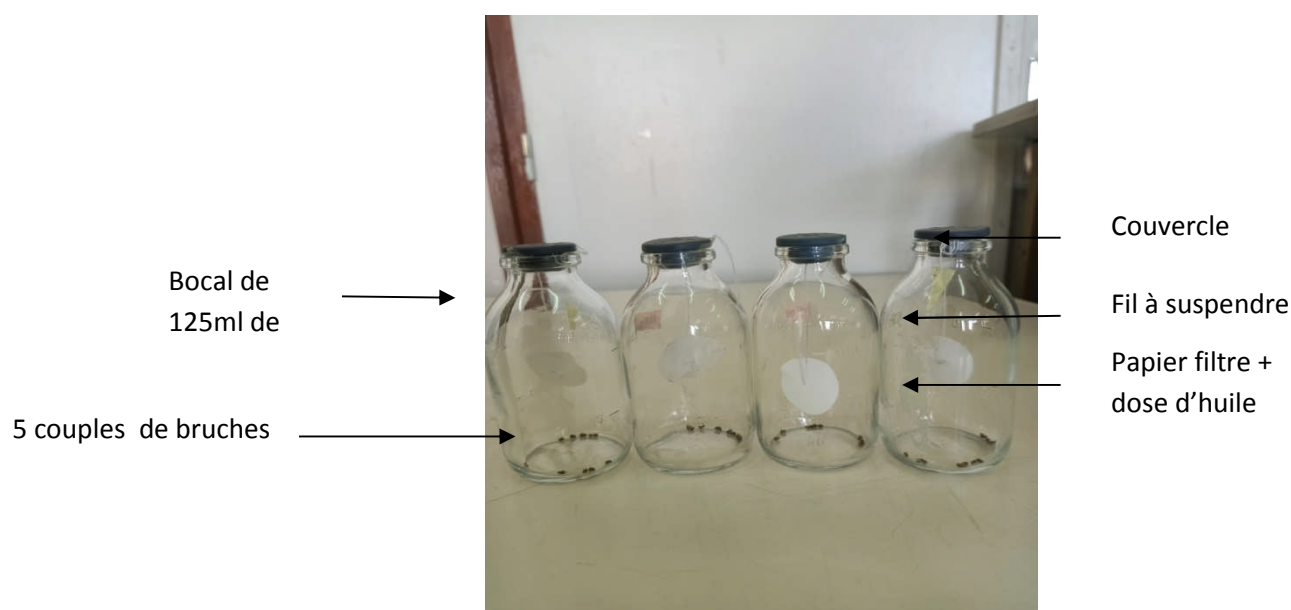


Figure 16. Test par inhalation sur les adultes de *C. maculatus* traités par différentes doses de l'huile essentielle de pin maritime (4 μ l, 6 μ l, 12 μ l et 18 μ l)

(ORIGINALE, 2019).

Détermination de DL50 par inhalation

La **DL50** est déterminée afin d'estimer la toxicité d'un produit ou d'une substance donnée ; elle correspond à la dose de la substance toxique entraînant la mort de **50 %** d'individus d'un même lot soumis à l'expérience.

Sa détermination fait appel au calcul de la mortalité corrigée en s'appuyant sur la formule d'ABBOTT (1925) (**NDOMO et al., 2009**), qui donne les valeurs corrigées de la mortalité en pourcentage en fonction des mortalités des échantillons traités à l'huile essentielle et celles du témoin selon la formule suivante :

$$Mc\% = \frac{(M - MT)}{(100 - MT)} \times 100$$

MC (%) : pourcentage de mortalité corrigée.

M (%) : pourcentage de morts dans la population traitée à l'huile essentielle.

MT (%) : pourcentage de morts dans la population témoin.

Cette correction permet d'exclure le biais dû à la mort naturelle observée dans nos conditions expérimentales.

La DL50 est déduite par le tracé de la droite des Probits en fonction des log décimaux des doses ; et cela après la transformation des pourcentages de mortalités corrigées en Probits, réalisée par le logiciel **XLSTAT, PRO**.

3. Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus pour les différents paramètres pour l'activité insecticide de l'huile essentielle sont soumis à une analyse de la variance ANOVA à un ou deux critères de classification en utilisant le logiciel STAT BOX, version 6.3 pour déterminer l'action d'huile essentielle vis-à-vis de la bruche de niébé.

Les variables dont les analyses statistiques montrent une différence significative ont subi le test de NEWMAN et KEULS au seuil $P=5\%$ (**DAGNELIE, 1975**).

Si la probabilité (**P**) est :

$P > 0,05$ il n'y a pas de différence significative.

$0,01 < P \leq 0,05$ il y a une différence significative.

$0,001 \leq P \leq 0,01$ il y a une différence hautement significative.

$P \leq 0,001$ il y a une différence très hautement significative.

***Résultat et
discussions***

1. Evaluation de l'effet insecticide par inhalation

D'après les résultats représentés dans la figure 17, la mortalité moyenne des adultes de *C. maculatus* augmente en fonction de la dose et de la durée d'exposition à l'huile essentielle de *Pinus pinaster* par inhalation.

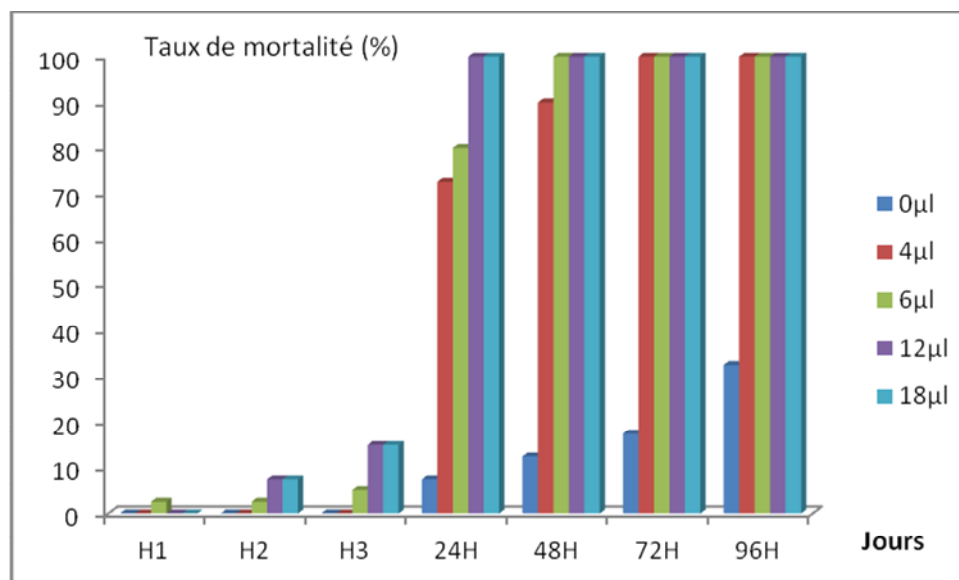


Figure 17. Mortalité (en%) des adultes de *C. maculatus* traités par l'huile essentielle de pin maritime en fonction des doses et de la durée d'exposition.

Le pourcentage de mortalité enregistré dans les lots témoins n'est que de 7.5% après 24h d'exposition ; il atteint la valeur maximale de 32.5% après 96h d'exposition.

De faibles taux de mortalité sont observés dès les premières heures d'exposition des adultes de *C. maculatus* à l'huile essentielle du pin maritime surtout aux plus fortes doses utilisées.

Après 24 heures, d'exposition à la dose de 18 μl et 12 μl, nous avons enregistré une mortalité de 100%, par conséquent celle-ci à un effet par inhalation important sur la bruche du niébé.

Pour l'huile testée, l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle qu'il y a une différence très hautement significative pour le facteur dose ($P=0.00013$) et pour le facteur temps ($P=0$) (Tableau. 4).

Tableau 4. Résultats de l'analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre mortalité des adultes de *C. maculatus* traités avec l'huile essentielle de pin maritime.

	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Proba.	E.T.	C.V.
Var. Totale	72486,79	34	2131,964				
Var. Facteur 1 Dose	12758,22	4	3189,555	9,254	0,00013		
Var. Facteur 2 Temps	51456,79	6	8576,132	24,883	0		
Var. Résiduelle 1	8271,781	24	344,658			18,565	38,97%

Le test de NEWMAN et KEULS au seuil de signification de 5% classe les doses d'huile essentielle pour l'effet par inhalation dans 2 groupes homogènes, plaçant les différentes doses dans le groupe A et le témoin dans le groupe B (Tableau 5.) et la durée d'exposition dans 2 groupes homogènes, où les durées de 1j, 2j et 3j sont placés dans le groupe B (Tableau. 6).

Tableau 5. Résultats du test de NEWMAN et KEULS pour l'effet de facteur dose de l'huile essentielle de pin maritime traité par inhalation sur mortalité des adultes de *C. maculatus*.

F1	Libelles	Moyennes	Groupes Homogènes	
4.0	D 12 μ L	60,357	A	
5.0	D 18 μ L	60,357	A	
3.0	D 6 μ L	55,714	A	
2.0	D 4 μ L	51,786	A	
1.0	D 0 μ L	10		B

Tableau 6. Résultats du test de NEWMAN et KEULS concernant l'effet de la durée d'exposition à l'huile essentielle de pin maritime après traitement par inhalation des adultes de *C. maculatus*.

F2	Libelles	Moyennes	Groupes Homogènes	
7.0	T 96H	86,5	A	
6.0	T 72H	83,5	A	
5.0	T 48H	80,5	A	
4.0	T 24H	72	A	
3.0	T 3H	7		B
2.0	T 2H	3,5		B
1.0	T 1H	0,5		B

Estimation de la DL50 de l'huile essentielle de pin maritime sur les adultes de *C. maculatus* par inhalation après 24h d'exposition.

La transformation des données de la mortalité observée (Mo%) en mortalité corrigée (Mc%) puis en probits et celle des doses en log des doses a permis d'établir le tableau suivant :

Tableau 7. Mortalités moyennes des insectes en pourcentage et en unités des Probits en fonction de des doses de Pin maritime par inhalation.

Dose μ l	Moyen de mortalité %	Mortalité corrigé %	Log de dose	Probit des moyens de mortalité corrige
4 μ l	72.5	70.27	0.6	5.52
6 μ l	80	78.12	0.78	5.77
12 μ l	100	100	1.07	8.09
18 μ l	100	100	1.25	8.09

Ces données permettent de construire la courbe de régression linéaire (Figure18), représentant la relation entre le logarithme décimal des doses et les Probits des moyennes de mortalités corrigées des adultes de *C. maculatus* soumis aux traitements.

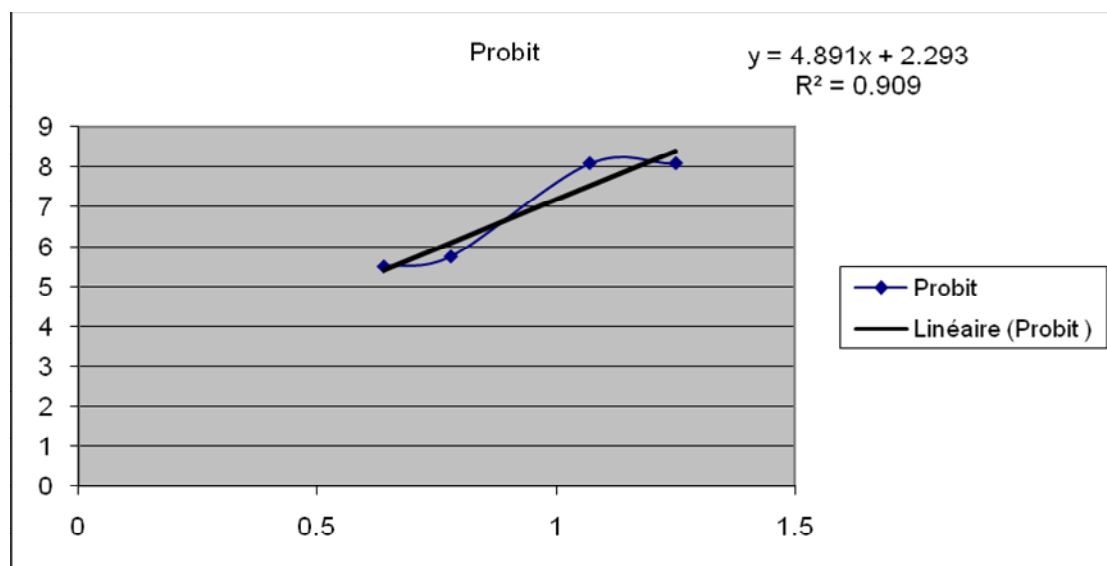


Figure18 : Ajustement d'une droite de régression des moyennes de mortalité des adultes de *C. maculatus* en fonction du logarithme des doses soumis à l'action de l'huile essentielle de pin maritime par inhalation.

La droite de régression $y = 4.8917x + 2.2938$ permet de déterminer la DL50, la valeur absolue de x lorsque y égale à 5 correspond à la dose recherchée ; le calcul de la DL50 a donné une valeur de 3.548 μ l. le coefficient de corrélation entre les deux variables se rapproche de 1 ($R = 0.9099$) il indique ainsi une forte corrélation entre les deux variables quantitative (doses et moyennes de mortalité).

Cette toxicité s'explique vraisemblablement par la composition chimique des huiles testées présentant une teneur élevée en monoterpènes oxygénés.

Discussion

L'huile essentielle de pin maritime a exprimé une importante toxicité par inhalation, elle réduit la durée de vie des adultes de *C. maculatus* d'une manière très hautement significative. A la dose de 12 μ l, l'huile essentielle enregistre une mortalité totale de *C. maculatus* après 24h d'exposition.

Dans notre expérimentation le calcul de la DL50 d'huile essentielle pin maritime sur les adultes de *C. maculatus* par inhalation après 24h d'exposition est de 3.548 μ l

Nos résultats se rapprochent des certains travaux qui ont été effectué sur d'autres huiles essentielles dans le cadre de la lutte biologique contre les ravageurs des denrées stockées.

Ainsi, MESSOUADENE et MOUHOU (2017) ont montré que la mortalité de *C. maculatus* augmente quand les doses augmentent et que ces taux ne dépassent pas, à la plus forte dose 16 μ l, 51.31% pour les huiles extraites de feuilles de *Pinus pinea*. Par contre les huiles des feuilles de *Juniperus oxycedrus* se révèlent plus toxiques puisqu'elles provoquent une mortalité de 96.05 % à la dose de 16 μ l. Ceci est confirmé par la DL₅₀ calculée (5.49 μ l/ml). Cette toxicité s'explique vraisemblablement par la composition chimique des huiles testées présentant une teneur élevée en monoterpènes oxygénés.

HEDJAL-CHEBHEB (2014) a enregistré 100% de mortalité de *C. maculatus* après 24h d'exposition dans les lots traités avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus cinerea* à la dose de 25 μ l. Pour leur part, KELLOUCHE et al. (2010) ont obtenu le même résultat avec l'huile essentielle d'*E. globulus* et *E. citriodora*, et cela a partir de la dose de 20 μ l/l après 24h d'exposition.

TALEB-TOUDERT (2015) a signalé une mortalité de 100% après 24 heures d'exposition (à la dose de 16 μ l) des adultes de *Callosobruchus maculatus* aux vapeurs des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata*, *Ocimum basilicum*, *Aloysia*

triphylla, *Salvia officinalis* et *Myrtus communis*. Par contre, elle a souligné que les huiles de *Pistacia lentiscus* se révèlent faiblement toxique par fumigation sur les adultes du la bruche, dans les mêmes conditions expérimentales.

Sur une bruche polyvoltine voisine, HAMDANI (2012) a montré que les taux de mortalité des adultes d'*A. obtectus* sont proportionnels aux deux facteurs dose et temps pour quatre huiles essentielles d'agrumes utilisées. Le pourcentage de mortalité le moins élevé est enregistré pour l'huile essentielle de l'orange avec une moyenne de 18,33% sur l'ensemble des doses et des durées d'exposition, tandis que celui le plus élevé est enregistré pour l'huile essentielle du bigaradier avec une moyenne de 79,27% sur l'ensemble des doses et des durées de traitement.

GOUCEM-KHELFANE (2014) a constaté que les huiles essentielles utilisées aux doses 0, 10, 30, 60 et 80µl /1L de volume d'air ont montré des taux de mortalités les plus élevés pour la menthe poivrée et la lavande ainsi que pour l'eucalyptus (Myrtacées) où une mortalité moyenne de 100% est enregistrée des la plus faible dose (10µl) après une durée d'exposition de 72h.

BOUCHIHKI TANI et al. (2011) qui ont testé l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* (Lamiacées) à différentes doses sur les adultes de trois bruches *Acanthoscelides obtectus*, *Callosbrus maculatus*, *Bruchus rufimanus*. Cette huile présente une activité insecticide, les DL50 calculées après 48h d'exposition montrent que l'huile essentielle est très toxique sur *A. obtectus* avec DL50 = 1.44µl/30g de graines, présentent une toxicité un peu variable sur *C. maculatus* avec DL50 = 2.06µl/30g de graine, et moins toxique sur *B. rufimanus* avec DL50 = 7.72µl/30g de graines.

D'après cette étude, la bruche du niébé semble être moyennement résistante comparée aux bruches polyvoltines et sa DL50 est proche de la notre.

AMIRAT et al. (2011) montrent que le taux de mortalité des pucerons noirs par fumigation augmente proportionnellement avec la dose de deux huiles essentielles d'*Origanum glondulosum* et de *Lavandula stochas*. Les DL50 calculées après 12h d'exposition pour l'origan et après 24h pour la lavande montrent que l'huile de l'origan est plus toxique sur *Aphis pomi* avec une DL50 de 0,053µl/cm² et que l'huile de la lavande est moyennement toxique avec une DL50 de 0,105µl/cm².

KHALFI-HABES et al (2010), montrent que les huiles essentielles de trois plantes aromatique (L'origane, Romarin, thym) de la famille des Lamiacées provoquent une toxicité élevée par contact- inhalation sur *Rhyzopertha dominica* F. avec de faibles DL50

(DL50=0.232 mg /cm² pour l'Origan, suivi du romarin avec une DL50= 0.428 mg /cm², et du thym avec une DL50= 0.522 mg /cm²).

2. Evaluation de l'effet insecticide par répulsion

Nous constatons que les taux de répulsion de l'huile essentielle de pin maritime au doses 2µl, 4µl, 6µl, 8µl et 10µl sont respectivement de l'ordre 85%, 90%, 88%, 93% et 98% et augmentent avec les doses (Figure 19).

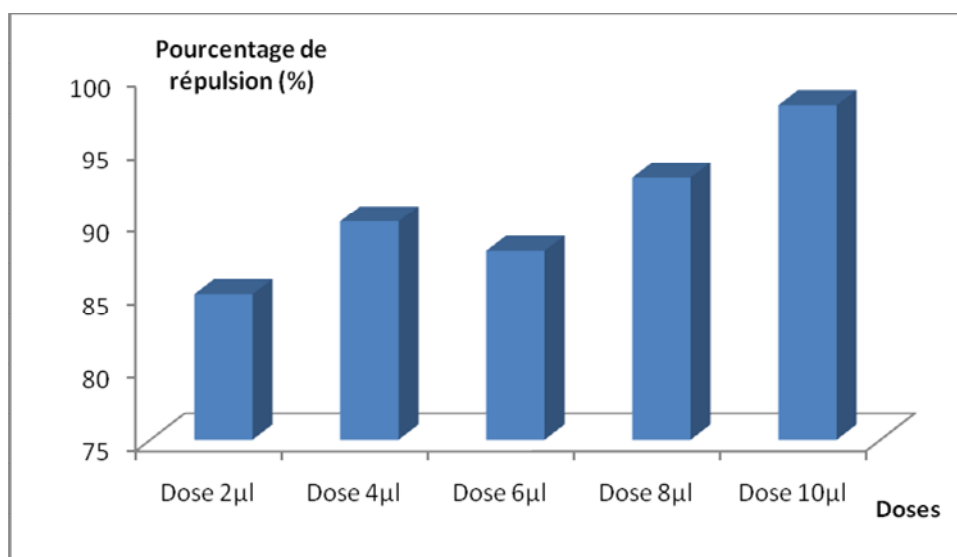


Figure 19. Taux moyens de répulsion des adultes de *C. maculatus* pour l'huile essentielle de pin maritime en fonction des doses.

Selon le classement de MC **DONALD et al. (1970)**, le taux moyen de répulsion de l'huile essentielle de pin maritime est de 90.8% ; elle appartient donc à la classe V par conséquent son effet est très répulsif (Tableau 8).

Tableau 8. Nombre moyen de bruches recensées dans les parties traitées et non traitées et le pourcentage de répulsion de l'huile essentielle pin maritime.

Huile	Dose μ l	Moyenne d'individus présente dan la		Pourcentage
		Partie traitée	Partie non traitée	
	2 μ l	0.75	9.25	85%
	4 μ l	0.5	9.5	90%
	6 μ l	0.75	9.25	88%
	8 μ l	0.25	9.75	93%
	10 μ l	0	10	98%
Taux moyenne de répulsion	90.8%			
Classe	V			
Effet	Très répulsif			

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle qu'il n'ya pas de différence significative entre les différentes doses utilisées par répulsion ($P = 0.635$) (Tableau 9).

Tableau 9. Résultats de l'analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre pourcentage de répulsion des adultes de *C. maculatus* traités avec l'huile essentielle de pin maritime.

	S.C.E	DDL	C.M.	Test F	Proba.	E.T.	C.V.
Var. Totale	2495	19	131,316				
Var. Facteur 1 Dose	370	4	92,5	0,653	0,6359		
Var. Résiduelle 1	2125	15	141,667			11,902	13,15%

Discussion

Le traitement par répulsion montre que l'huile essentielle de *P. pinaster* est très répulsive vis-à-vis de *C. maculatus*. L'effet répulsif de certaines huiles essentielles a été mis en évidence par de nombreuses études sur la bruche du niébé et d'autres bruches des stocks.

MESSOUADENE et MOUHOU (2017) ont montré que l'effet répulsif varie selon les huiles essentielles utilisées ; la plus grande répulsivité est obtenue avec les huiles de *Juniperus oxycedrus*, notamment celles des feuilles où des pourcentages moyens allant de

55% (à la dose de 4 µl/ml) à 77.5 % à la dose 16 µl/ml ont été obtenus. Les huiles essentielles du *Pin pignon*, aux faibles doses (2µl et 4µl), se révèlent faiblement répulsives allant 27.5% et 40%. Pour les feuilles, les pourcentages moyens de répulsion oscillent entre 40 et 60 % pour les doses de 4, 8 et 4 µl/ml, respectivement. Les rameaux quant à eux exhibent une moyenne de répulsion allant de 60 à 70 %, aux doses de 8 à 16 µl/ml, respectivement.

HEDJAL-CHEBHEB (2014) a montré que les huiles essentielles de différentes espèces du genre *Eucalyptus* sont très actives à l'égard de *C. maculatus* à partir de la dose de 75µl. Par contre l'huile essentielle du Cyprès de l'Atlas (*Tetraclinis articulata*) est très répulsive à partir de la dose de 6.5µl (80%). Celle de *P. halepensis* est modérément répulsive (60%). Dans notre cas, l'huile essentielle de pin maritime s'est montrée beaucoup plus répulsive (90,08%) à l'égard des adultes de la bruche du niébé.

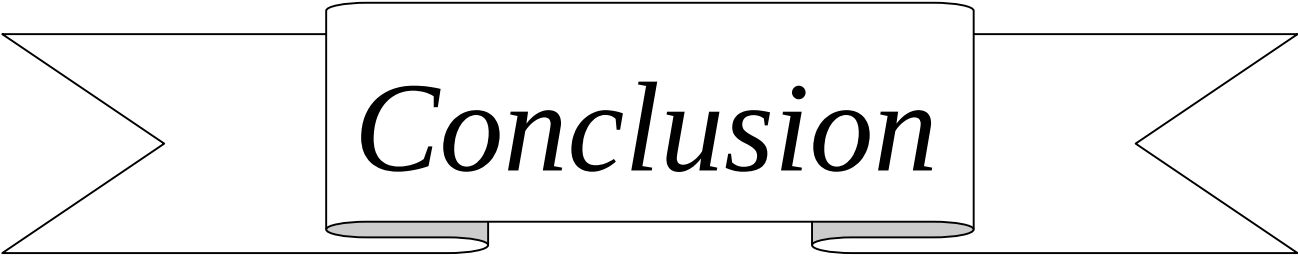
AGGARWAL et al. (2001), signalent que le 1-8 cinéol est moyennement répulsif sur les bruches de niébé, à la dose de 4 µl.

De même TALEB-TOUDERT (2015) a montré que les huiles essentielles d'*E. globulus*, *E. radiata*, *S. officinallis* se sont révélées comme les plus répulsives sur les adultes de *C. maculatus* avec un taux de 100% à la dose de 12µl.

D'après DAHMANI et GOUDJIL (2005), un effet modérément répulsif (53.5%) a été enregistré avec l'huile de rose à l'égard de la bruche du niébé, tandis qu'un effet très faiblement répulsif a été noté pour l'huile végétale d'amande douce.

De même, ABD MEZIEM et AIT GHEBRI (2007) ont mis en évidence que l'huile de menthe verte à un effet moyennement répulsif sur les adultes de *C. maculatus*, avec un taux moyen de répulsion de 59.58%. Par ailleurs, l'étude effectuée par BELHOCINE et MAKOUR (2007) a montré que l'huile de sauge a un effet significatif sur la répulsion des adultes de *C. maculatus*, dont le taux moyen de répulsion est de 64,44%.

HAMDANI (2012) a montré que le taux de répulsion le plus faible enregistré avec l'huile essentielle de l'Orange douce avec une moyenne de 17.5%, alors que le plus élevé est enregistré avec l'huile essentielle de Bigaradier avec une moyenne de 70%. Les deux autres huiles ont montré des taux de répulsion moyens de 50% et 42.5% respectivement pour les huiles essentielles de Citronnier et de Pamplemoussier.



Conclusion

Notre étude rentre dans le cadre de la recherche de solutions alternatives qui permettent de réduire les pertes occasionnées par un insecte nuisible, la bruche du niébé, insecte clétophage utilisé comme modèle biologique associé au niébé et cela par l'utilisation des huiles essentielles pour limiter les inconvénients liés aux pesticides. Elle porte sur l'évaluation de l'effet par inhalation et par répulsion de l'huile essentielle extraite des rameaux fraîchement taillés de pin maritime sur la bruche du niébé *C. maculatus*.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'huile essentielle utilisée exprime une toxicité vis-à-vis des adultes de *Callosobruchus maculatus*, cette toxicité varie selon la dose utilisée, la durée d'exposition et le type de test effectué soit par inhalation ou répulsion et la durée d'exposition.

L'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de Pin maritime (*Pinus pinaster*) testée, montre que la mortalité moyenne des adultes de *C. maculatus* augmente en fonction de la dose et de la durée d'exposition à l'huile essentielle par inhalation, après 24 heures, d'exposition à la dose de 18µl et 12µl, nous avons enregistré une mortalité de 100%, par conséquent celle-ci à un effet par inhalation important sur la bruche du niébé, l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle des différences très hautement significatives, pour les deux facteurs dose et temps.

Le traitement par inhalation avec l'huile essentielle de *Pinus pinaster* L. est avéré toxique vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*, les doses létales occasionnant la mortalité de 50% des adultes de ce ravageur commencent à partir de 4 µl/ml. Ceci est confirmé par la **DL₅₀** calculée (**3.548µl**) Cette toxicité s'explique vraisemblablement par la composition chimique des huiles testées présentant une teneur élevée en monoterpènes oxygénés.

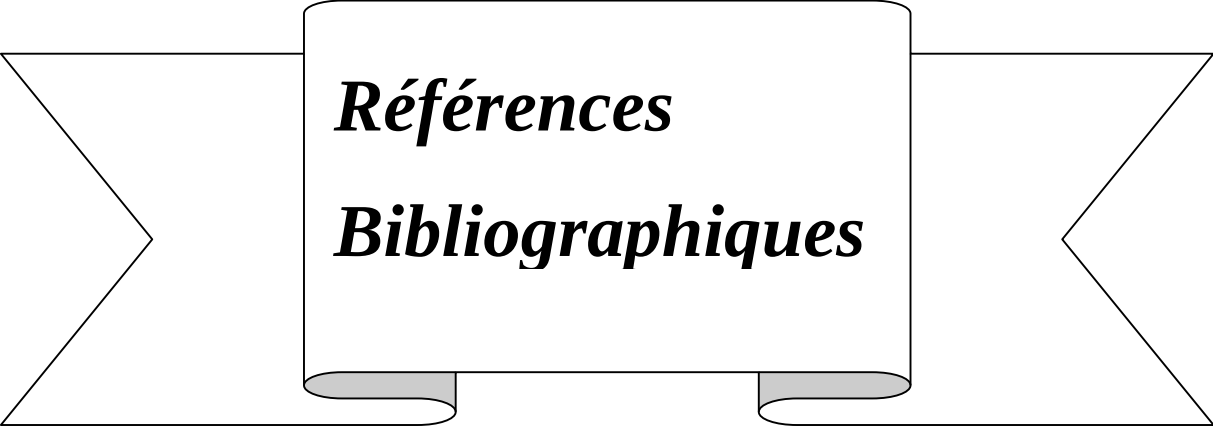
Selon le classement de **MC DONALD et al. (1970)**, le pourcentage de répulsion de l'huile essentielle de pin maritime est de **90.8%** elle appartient donc à la classe V par conséquent son effet est très répulsif.

Ce présent travail affirme que l'huile essentielle étudiée peut assurer une protection des grains de niébé soit par inhalation ou par répulsion. Par conséquent, elle peut être

exploitée comme agent biocide pour lutter contre *C. maculatus*. Ainsi cette étude nous ouvre de nombreuses perspectives dont :

- Évaluer les effets insecticides d'autres huiles essentielles vis-à-vis des adultes de *Callosobruchus maculatus* ;
- Effectuer des essais en utilisant l'huile de Pin maritime contre d'autres stades de développement de l'insecte notamment les œufs et les formes cachées (larves) ;
- Réaliser des expériences complémentaires afin de préciser la nature du (ou des) composé (s) responsable (e) de cette activité.

Les résultats obtenus sont certes encourageants, mais l'efficacité de cette huile essentielle reste encore à démontrer en situation réelle dans les entrepôts de stockage.



Références

Bibliographiques

1. **ABD MEZIEM S., AIT GHEBRI F., 1997.** evaluation de l'effet bio-insecticide de l'huile essentielle de la menthe verte : *mentha viridis*, a l'encontre de la bruche de niébé *callosobruchus maculatus* f. mémoire d'ing en biologie u.m.m.t.o. 85p.
2. **AIT AIDER F. 2017 .** Activité Biologique des Principaux Constituants de l'Huile d'Olive de Kabylie sur *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, 123p.
3. **AGGARWAL, K.K., A.K., PRAJAPATI, V., KUMAR S., 2001.** Toxicity of 1-8 cinéole to wards threespecies of stored product coleopteran. Insect science and Application. Vol.21, N° 2.PP : 155-160.
4. **ANONYME, 2003.** Le Pin Maritime *Pinus pinaster* Ait Pinacée. Fondation d'Entreprise pour la Protection et la Bonne Utilisation du Patrimoine Végétal 15, Rue Théron-Périe - 81106.
5. **ARTHUR F.H., 2000.** Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. Crop Protection, Vol. 19: 577- 582.
6. **AVIDOV Z., APPLEBAYNS S.W., BERLINGES M. J., 1965.** Physiological aspects of host specificity in the Bruchidae on positional preference and behaviour of *Callosobruchus chinensis* L., *Ent. Exp and appl*, pp: 96-106.
7. **BALACHOWSKY A.S., 1962.** Entomologie appliquée à l'agriculture, les coléoptères. Ed. Masson et Cie, Paris, T1. 564 P.
8. **BOROWIEC L., 1987.** The genera of seed-beetles (Coleoptera, Bruchidae). *Polskie Pismo Entomologic*, 57, pp: 3-207.
9. **BOUGHDAD A., GILLON Y., GAGNEPAIN C., 1986.** Influence des téguments des grains murs de *Vicia faba* sur le développement larvaire de *Callosobruchus maculatus*. *Entomol. Exp. Appl*, pp: 210-223.
10. **BOUCHIKHI-TANI Z., 2006.** Bio-efficacité de la substance des feuilles de deux variétés de haricot *Phaseolus vulgaris* sur les différents états de développement du bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera : Bruchidae). Mémoire de Magistère en Biologie. Option Ecologie Animale. Faculté des sciences. Université Abou Baker Belkaid Tlemcen. p87.
11. **CASWELL G. H. 1960.** The infestation of cowpea the western region of Nigeria. *Tropical sciences* 3: 154 – 158.
12. **CHATZOPOULOU P. S., KATSIOTIS S. T., 1995.** *Pharm. Acta Helv.* 70 : 247.

13. **CLOUTIER C., CLOUTIER C., 1992** .Les solutions biologique de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures .In : Vincent C et Corderre D (éd) La lutte biologique. Gaëtan Morin Ed. , boucherville. PP: 19-88
14. **CRAUFURD P.Q., SUMMERFIELD R.j., ELLIS R.H. , ROBERTS E.H., 1997.** Photoperiod, temperature, and the growth and development of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In : Advances in cowpea research, B.B. Singh et al. éd., Ibadan, Nigeria, IITA-JIRCAS, p. 75-86.
15. **CREDLAND P.F. (1992):** The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *Journal of Stored Products Research*, 28: 1-9.
16. **CRONQUIST A. (1981):** An integrated system of classification of flowering plants. *Columbia University*, Paris, New York, 1262p.
17. **DAHMANI S., GOUDJIL M.A., 2005.** Activité biologique de quatre huiles essentielles à l'égard d'un ravageur des denrées stockées : *Callosobruchus maculatus* F (Coléoptera : Bruchidae). Mémoire d'Ing en Biologie U.M.M.T.O. 55p.
18. **DELOBEL et TRAN, 1993.** Les coléoptères alimentaires entroposées dans les régions chaudes. ORSTOM/ CTA. Faune tropicale 32. Paris 424p.
19. **DOMINIQUE M., 2007.** Le pin maritime. La forêt notre savoir faire. Ed. Institut pour le développement forestier. Paris. 4p.
20. **DURANTI M., Gius C., 1997.** Legume seeds: Protein content and nutritional value. *Field Crops Res.*, 53: 31-45.
21. **FANNY B., 2008.** Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse. 78p.
22. **GHALMI, N .HANIFI- MEKLCHE, L BAUDOIN , JP.OUNANE ,SM. BENMOHAMED A., 2005.** caractérisation agro-morphologique de populations locales de (*vigna unguiculata* l. walp) cultivées en algérie. 47 P.
23. **GHALMI N., 2011.** Etude de la diversité génétique de quelques écotypes locaux de *vigna unguiculata* (L.) Walp. cultivés en Algérie. Thèse doctorat. ENSA, El Harrach. Alger. 149 p.
24. **GOUCEM-KHELFANE K., 2014.** Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles et des poudres de quelques plantes à l'égard de la bruche de haricot *Acanthoselides obtectus* say composés volatils de différentes variétés de la plante hôte

(*Phaseolus vulgaris* L.). Thèse de Doctorat d'Etat en Science Biologiques, spécialité Ecologie et Biologie des populations. U.M.M.T.O. Pp183-194

25. HAMDANI D., 2012. Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques de la bruche du Haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae). Mémoire de Magister en sciences Biologie. Option Ecologie. U.M.M.T.O. 126p.

26. HEDJEL-CHEBHEB M., 2014. Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Etude de leur activité biologique à l'égard d'un insecte ravageur des graines stockées *Callosobruchus maculatus*. F. 1775 (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Biologiques, spécialité Entomologie appliquée. U.M.M.T.O. 99p.

27. HERZI N., 2013. Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. *Thèse de doctorat*. INPT de Toulouse, 177p.

28. HOFFMAN A., 1945. Coléoptères Bruchides et Anthribides (Faune de France), Paris, 184 p.

29. JOUAULT S., 2012. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. France.137p.

30. 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.

31• 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.

32. KEITA S. M., VINCENT C., SCHMIT J. PARNASON J. T., BELANGER A., 2001. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum Gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and *poxderto contro Callosobruchus maculatus* (Fab). (Coleopera : Bruchidae). Journal of Stored Products Research. Vol. 37, n0 4, pp. 339-349.

33. KHALFI-HABES O., 2007. Evaluation du potentiel biocide et étude de l'influence de la composition des huiles essentielles de quelques plantes algériennes sur *Rhyzoperta dominica* (F) (Coleoptera: Bostrychidae) et *Callosobruchus maculatus*

(F.) (Coleoptera: Bruchidae). Thèse de Doctorat d'état en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique. El-Harache. 157 p.

34. KONGNE. M. L., 2012. Evaluation de l'activité insecticide de trois plantes locales contre *Callosobruchus maculatus* dans la région de l'Extrême-Nord Cameroun pour la conservation de *Vigna unguiculata*. Thèse du master en Biologies des organismes. Universités de Maroua. 80p.

35. KURUMA RW, KIPLAGAT O, ATEKA E, OWUOCHE G., 2008. Genetic diversity of Kenyan cowpea accessions based on morphological and microsatellite markers.

East Afr. Agric. For. J., 76: 3-4.

36. LABEYRIE V., 1962. : Les *Acanthoscelides*, Entomologie appliquée à l'agriculture In: BALACHOWSKI T(I), *Ed Masson publ.* Paris, pp : 469-484.

37. LICHTENSTEIN., E.P., 1966. Insecticides occurring naturally in crops. Adv. Chem. Ser. 53 :34-38.

38. 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.

39. MESSAUDENE H., MOUHOU N., 2017. Etude de la toxicité des huiles essentielles contre les ravageurs des denrées stockées. Mémoire Master en science biologiques. Université de Béjaia. p25.

40. MULONGOY K., 1985. Nitrogen-fixing symbiosis and tropical ecosystems. In : Cowpea research, production and utilization, S.R. Singh et K.O. Rachie éd., New York, EtatsUnis, Wiley, p. 307-315.

41. MARTINS LMV., XAVIER GR., RANGEL FW., RIBEIRO JRA., NEVES MCP., MORGADO LB., RUMJANEK NG., 2003. Contribution of biological fixation to cowpea: a strategy for improving seed yield in the semi-arid region of Brazil. *Biol Fertil Soil* 38: 333-339.

42. MC DONALD L. L., GUY R. H., SPEIRS R. D., 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored product insects. Marketing Research Report. Washington : Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture. (882) :183.

43. MOUNSI L., SLAMANI. A., 2006. Utilisation des parasitoïdes dans la lutte contre les ravageurs des denrées stockées. Mémoire, 56 p.

44. **MURDOCK G.P., 1959.** Africa: its people and their culture history. Mc. Graw Hill, New York. 456 P.
45. **NYAMADOR, W.S., KETOH, G.K., AMEVOIN, K., NUTO, Y.& KOUMAGLO, H.K., 2010.** Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. Journal of Stored Products Research. Vol.46 : 48-51.
46. **OUAHID., 2001.** Etude comparative de la croissance de trois espèces forestières : *Pinus pineal.*, *Pinus pinaster* Ait et *Pinus camariensis* chosmith-Aspect éco-dessdrométrique zanndouche, ouahid These Magister. 94p.
47. **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.
48. **OUEDERAGO., SOU S., SANON A., MONGE J P., HUIGNARD J., TRAM M.D., CREDLAND P.F .,1996.** Influence of temperature and humidité population of. c. m (col:Bruchidae) and its Parasitoid *pinaramus basalis* (pteromalidae) in two zones of Burkina Faso. Bull. of Entom. Res., 86: 695 -702.
49. **PASQUET R.S., BAUOIN J-P., 1997.**Le niébé. *In:L'amélioration des plantes tropicales*, P.483-505.
50. **PIZANO M., 2014.** Elimination du bromure de méthyle dans les pays en développement. *Programme des Nations Unies pour l'Environnement, PNUE*, 68p.
51. **QUINFM., 1997.** Introduction. In: Advances in Cowpea research. Singh BB, Mohan Raj DR, Dashiel KE, Jackai LEN. Ed. Copublication of international institute of tropical agriculture (IITA), Ibadan, Nigeria and Japan international institute research center for agricultural sciences.
52. **RACHIE K.O., ROBERT L.M., 1974.** Grain legumes of lowland tropics. *Advances in Agronomy* 26: pp. 44-50.
53. **RENAULT-ROGET C., 2008.** Bio-pesticides végétal. 2^{ème} Ed. Tes et Lavoisier, Lassay-les-Chateaux. PP186-199.
54. **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.
55. **SINGH BB., 2002.** Recent genetic studies in cowpea. In: Challenges and opportunities for Enhancing sustainable Cowpea production. Farkun CA, Tarawali SA, Singh BB, Kormawa PM, Tamo M. Ed. IITA, Ibadan, Nigeria: 3-13.

56. **SKERMAN P.J., 1982.** Les légumineuses fourragères tropicales. Edition : Rome : *Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture*, 594p.
57. **TALEB-TOUDERT (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat en Sciences biologiques. U.M.M.T.O, 206p.
58. **TIMKO MP., EHLERS JD., ROBERTS PA., 2007.** Cowpea. In: Pulses. Sugar and Tuber crops, Genome mapping and molecular breeding in plants (3), Kole C. Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 49-67
59. **UTIDA .S., 1981,** Polymoyphism and phase dimorphism in callosobruchus; In ecology of bruchidas attacking legume. Ed. By Labeyrie, Junk, the Hygue, pp 143-17.
60. **VAN DER WERF H.M.G., 1996.** Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 60(2-3): 81-96.
- .

Résumé

Les légumes secs représentent une importante part de l'alimentation humaine, la perte d'importantes quantités pendant le stockage est due en partie aux mauvaises conditions de stockage et surtout aux attaques d'insectes. La bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*), est le problème principal affectant le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) à la fois aux champs et aux stocks. Ce présent travail a porté sur l'étude de l'efficacité de l'huile essentielle de Pin maritime (*Pinus pinaster*) à l'égard des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Callosobruchus maculatus*. Elle a été testée par inhalation et par répulsion sur des adultes âgés de moins de 24h à 30°C et 70% HR. Les résultats mettent en évidence un effet toxique manifeste de l'huile essentielle de Pin maritime, dès la dose de 12µl l'huile essentielle enregistre une mortalité totale de *C. maculatus* après 24 heures d'exposition. La DL50 par inhalation après 24h d'exposition est de 3.548µl. Le traitement par répulsion montre que l'huile essentielle de *P. pinaster* est très répulsive vis-à-vis de *C. maculatus* enregistrant un pourcentage de répulsion moyen de 90,8%. Il ressort de notre étude que l'huile essentielle de pin maritime présente des propriétés insecticides remarquables en exerçant un effet létal par inhalation et un effet répulsif remarquable sur les adultes de *C. maculatus*.

Mots-clés: Huile essentielle, *Pinus pinaster*, *Callosobruchus maculatus*, inhalation, répulsion, toxicité.

Abstract

Pulses represent an important part of the human diet, the loss of significant quantities during storage is due in part to poor storage conditions and especially to insect attacks. Cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* F.) is the main problem affecting cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) in both fields and stocks. This work focused on the study of the efficacy of maritime pine (*Pinus pinaster* L.) essential oil against adults of a stored food pest *Callosobruchus maculatus*. It has been tested by inhalation and by repulsion on adults aged less than 24 hours at 30 ° C and 70% RH. The results showed a clear toxic effect of the maritime pine essential oil, as of the dose of 12µl the essential oil records a total mortality of adults after 24 hours of exposure. The inhalation LD50 after 24 hours of exposure is 3.548µl. The repulsive treatment showed that the essential oil of *P. pinaster* is very repellent to *C. maculatus* with an average repulsion percentage of 90.8%. Our study shows that maritime pine essential oil has remarkable insecticidal properties by exerting a lethal effect by inhalation and a remarkable repellent effect on adults of *C. maculatus*.

Key-words: Essential oil, *Pinus pinaster*, *Callosobruchus maculatus*, inhalation, repulsion, toxicity.