

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

**Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale**

THESE DE DOCTORAT

En Sciences Biologiques

Option : Ecologie et Biologie des Populations

Présentée par :

Mme GOUCEM Née KHELFAANE Karima

Sujet

Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles et des poudres de quelques plantes à l'égard de la bruche du haricot *Acanthocelides obtectus* Say (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) et comportement de ce ravageur vis-à-vis des composés volatils de différentes variétés de la plante hôte (*Phaseolus vulgaris* L.).

Soutenue publiquement le.....2014 devant le jury composé de :

Mr DERRIDJ Arezki	Prof.	UMMTO	Président
Mme MEDJDOUB-BENSAAD Ferroudja	Prof.	UMMTO	Rapporteur
Mme FREROT Brigitte	Doct.	INRA de Versailles	Co-rapporteur
Mme SAHIR-HALOUANE Fatma	Prof.	Univ. de Boumerdes	Examinatrice
Mme AOUAR-SADLI Malika	MCA	UMMTO	Examinatrice
Mr CHAKALI Gahdeb	Prof.	ENSA d'El Harrach	Examineur

Remerciements

Au terme de ce travail de recherche, réalisé au laboratoire d'Entomologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université M. Mammeri de Tizi Ouzou, je me dois de remercier toutes celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, au bon déroulement de cette thèse.

Je tiens à remercier en tout premier lieu Mme MEDJDOUB-BENSAAD F., Professeur en Biologie à l'UMMMTO de Tizi Ouzou de m'avoir accordé l'honneur de diriger ce travail, pour son soutien sans faille et pour l'intérêt qu'elle a continuellement porté pour cette étude. Ses conseils, ses encouragements et sa disponibilité m'ont été d'un grand intérêt.

Je remercie également Mme FREROT B., Docteur-chercheur à l'INRA de Versailles, d'avoir accepté de codiriger ce travail, de m'avoir accueilli au laboratoire d'Ecologie Chimique et de m'avoir initié à l'écologie chimique ; ses enseignements, encouragements, conseils et orientations m'ont été très précieux.

Mes sincères remerciements vont aussi à l'adresse de Mr DERRIDJ A., Professeur en Sciences Agronomiques à l'UMMTO, pour l'honneur qu'il me fait en présidant le jury.

Mme SAHIR-HALOUANE F., Professeur à l'Université de Boumerdes, Mme AOUAR-SADLI M., Maître de conférences A à l'Université de Tizi Ouzou et Mr CHAKALI G., Professeur à l'ENSA d'El Harrach me font l'honneur de participer à l'examen de ce travail. Je les remercie vivement pour avoir accepté de prendre de leur temps pour lire ce manuscrit.

Je remercie également Mr LARIBI M. et Mr ASLA T. Maîtres Assistants classe A à l'UMMMTO pour leur aide dans l'identification des plantes aromatiques récoltées dans la région. Je leur adresse tout mon respect pour leur disponibilité.

Je tiens à remercier tous les éléments de l'équipe de recherche du laboratoire d'Entomologie, pour leur aide qui m'a permis de mener à bien cette recherche particulièrement Mme LARDJANE N., Melle METNA F. et Mr MEZANI S. Je n'oublierais pas de remercier l'équipe de recherche du laboratoire d'Ecologie Chimique de l'INRA de Versailles pour leur aide plus particulièrement LEPPIK E. Que tous les étudiants que j'ai encadrés à la faculté, trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements pour leur contribution et leur sérieux.

Une mention particulière est réservée à Mme HARCHAOUI C. et MOHAMMED OUALI D. pour leur soutien et encouragements tout le temps.

Table des matières

Liste d'abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Présentation de la plante hôte *Phaseolus vulgaris* L.

1. Origine et répartition géographique 4

2. Position systématique 4

3. Valeur nutritionnelle 4

4. Intérêt agro économique 5

4.1. Intérêt agronomique 5

4.2. Intérêt économique 6

Chapitre II. Présentation de l'insecte *Acanthoscelides obtectus* Say

1. Introduction..... 9

2. Caractéristiques de la bruche du haricot.....11

2.1. Position systématique12

2.2. Origine et répartition géographique12

2.3. Description de l'espèce13

2.3.1. L'œuf13

2.3.2. La larve13

2.3.3. La nymphe13

2.3.4. L'adulte.....14

2.4. Biologie d'*Acanthoscelides obtectus*.....15

2.5. Dégâts et pertes16

3. Moyens de lutte.....17

3.1. Lutte biologique	18
3.2. Lutte par les plantes ou phytothérapie	18

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III. Etude du cycle biologique de la bruche du haricot

1. Introduction.....	19
2. Matériels et méthodes.....	19
2.1. Matériel biologique.....	19
2.1.1. Les bruches	19
2.1.2 Les graines de haricot	19
2.2. Méthodes	20
2.2.1. Elevage de masse	20
2.2.2. Etude du cycle de développement de la bruche	20
3. Résultats.....	20
4. Discussion.....	24

Chapitre IV. Etude de l'effet biocide des poudres des feuilles des plantes sur *A. obtectus*

1. Introduction.....	26
2. Matériels et méthodes.....	27
2.1. Matériel biologique	27
2.1.1. Les bruches	27
2.1.2. Les graines de haricot	27
2.1.3. Les poudres végétales	28
2.2. Méthodes	31
2.2.1. Récolte et préparation des poudres végétales.....	31
2.2.2. Evaluation de l'efficacité des poudres des feuilles sur <i>A. obtectus</i>	31
2.3. Analyse statistique	34
3. Résultats	34
3.1. Effet biocide des poudres végétales sur la biologie de l'insecte	34
3.1.1. Effet des poudres sur la longévité des adultes.....	34

3.1.2. Effet des poudres sur la fécondité des femelles.....	36
3.1.3. Effet des poudres sur la fertilité des femelles.....	37
3.1.4. Effet des poudres sur la viabilité des œufs	38
3.2. Effet biocide des poudres végétales sur les caractéristiques de la graine	40
3.2.1. Effet des poudres sur la perte en poids des graines	40
3.2.2. Effet des poudres sur la faculté germinative des graines	41
4. Discussion	45

Chapitre V. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles des plantes aromatiques sur *A. obtectus*

1. Introduction.....	50
2. Matériels et méthodes	52
2.1. Matériel biologique	52
2.1.1. Les bruches et les graines de haricot.....	52
2.1.2. Les huiles essentielles.....	52
2.2. Méthodes	57
2.2.1. Elevage des bruches	57
2.2.2. Evaluation de l'effet par contact des huiles essentielles sur <i>A. obtectus</i>	57
2.2.3. Evaluation de l'effet répulsif des huiles essentielles sur <i>A. obtectus</i>	58
2.2.4. Evaluation de l'effet par inhalation des huiles essentielles sur <i>A. obtectus</i>	60
2.3. Analyse statistique des résultats	60
3. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles par contact	61
3.1. Action sur la biologie de l'insecte	61
3.1.1. Résultats	61
3.1.2. Discussion	67
3.2. Action sur les caractéristiques de la graine	73
3.2.1. Résultats	73
3.2.2. Discussion.	76
4. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles par répulsion	77
4.1. Résultats.....	77
4.2. Discussion.....	79
5. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles par inhalation	81

5.1. Résultats.....	81
5.2. Discussion.....	84

**Chapitre VI. Etude de l'effet des composés organiques volatils sur le comportement
d'A. obtectus**

1. Introduction.....	87
2. Matériels et méthodes.....	91
2.1. Matériel biologique.....	91
2.1.1. Les bruches.....	91
2.1.2. Les légumineuses utilisées.....	91
2.2. Conditions expérimentales.....	92
2.2.1. Tests biologiques de choix.....	92
2.2.2. Test par olfactométrie.....	94
2.2.3. Extraction des composés volatils.....	95
2.2.4. Analyse des composés.....	96
2.2.5. Etude de la biologie de la bruche sur les différents cultivars de haricot.....	97
2.3. Analyse statistique des données.....	97
3. Résultats.....	98
3.1. Tests biologiques de choix.....	98
3.1.1. Choix initial.....	98
3.1.2. Temps de choix.....	98
3.1.3. Temps total.....	100
3.2. Tests en olfactomètre.....	101
3.3. Analyse des composés organiques volatils.....	103
Discussion.....	107
3.4. Biologie de la bruche sur les cultivars de haricot.....	113
Discussion.....	115
Conclusion générale.....	122
Références bibliographiques.....	126
Annexes	

Liste des figures

Figure 1. Morphologie du stade œuf (a), et de la larve L ₁ avant (b) et après sa sortie de l'œuf (c) d' <i>Acanthoscelides obtectus</i>	13
Figure 2. Morphologie des stades larvaires L ₂ , L ₃ et L ₄ et de la nymphe d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> (G : 2 x10)	14
Figure 3. Morphologie et dimorphisme sexuel des adultes d' <i>Acanthoscelides obtectus</i>	14
Figure 4. Graines de haricot avant et après la contamination par <i>Acanthoscelides obtectus</i>	16
Figure 5. Sortie de la larve L ₁ de l'œuf (a) et trou de pénétration de la larve L ₁ d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> dans la graine du haricot (b) (G×10).	21
Figure 6. Galeries creusées à l'intérieur des graines par les larves d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> (G×10)	21
Figure 7. Cycle de vie d' <i>A. obtectus</i> sur les graines de haricot commun	23
Figure 8. Test par contact des poudres des plantes à différentes doses (x dose= 0,25, 0,5, 0,75, 1 et 1,25g par 25 g soit 1%, 2%, 3%, 4% et 5%) contre <i>A. obtectus</i>	32
Figure 9. Test de germination des graines de haricot traitées par contact aux poudres végétales contre <i>A. obtectus</i>	34
Figure 10. Longévité moyenne (± écart-type) des adultes d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> traités par contact avec différentes doses des poudres végétales.	35
Figure 11. Fécondité moyenne (± écart-type) des femelles d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> après traitement par contact avec différentes doses des poudres végétales.	36
Figure 12. Taux moyen d'éclosion (± écart-type) des œufs d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> après traitement par contact avec différentes doses des poudres végétales.	37
Figure 13. Taux moyen de viabilité (± écart-type) des œufs d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> après traitement par contact avec différentes doses des poudres végétales.	39
Figure 14. Perte moyenne en poids (%) (± écart-type) des graines de haricot traitées par contact avec différentes doses des poudres végétales.	40
Figure 15. Taux moyen de germination (± écart-type) des graines de haricot traitées par contact avec différentes doses des poudres végétales.	42

Figure 16. Test par contact des huiles essentielles de plantes aromatiques contre <i>A. obtectus</i>	58
Figure 17. Test de répulsion des huiles essentielles des plantes aromatiques à différentes doses à l'égard d' <i>A. obtectus</i> .	59
Figure 18. Test d'inhalation effectué sur les adultes d' <i>A. obtectus</i> traités par différentes doses d'huiles essentielles. $x_{\mu l} = 10\mu l, 30\mu l, 60\mu l, 80\mu l$.	60
Figure 19. Longévité moyenne (\pm écart-type) des adultes de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	61
Figure 20. Longévité moyenne (\pm écart-type) des adultes de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	62
Figure 21. Fécondité moyenne (\pm écart-type) des femelles de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	63
Figure 22. Fécondité moyenne (\pm écart-type) des femelles de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	63
Figure 23. Taux d'éclosion moyen (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	64
Figure 24. Taux d'éclosion moyen (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	65
Figure 25. Taux moyen de viabilité (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	66
Figure 26. Taux moyen de viabilité (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.	66
Figure 27. Perte moyenne en poids (%) (\pm écart-type) des graines du haricot traitées par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques contre <i>A. obtectus</i> .	73
Figure 28. Perte moyenne en poids (%) (\pm écart-type) des graines de haricot traitées par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques contre <i>A. obtectus</i> .	74
Figure 29. Taux moyen de germination (%) (\pm écart-type) des graines du haricot traitées par contact à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques contre <i>A. obtectus</i> .	75
Figure 30. Taux moyen de germination (%) (\pm écart-type) des graines du haricot traitées par contact à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques contre <i>A. obtectus</i> .	76

Figure 31. Taux moyen de mortalité (%) (\pm écart-type) des adultes d' <i>A. obtectus</i> traités par inhalation à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques en fonction de la durée d'exposition	83
Figure 32. Taux moyen de mortalité (%) (\pm écart-type) des adultes d' <i>A. obtectus</i> traités par inhalation à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques en fonction de la durée d'exposition	84
Figure 33. Caractéristiques agro-morphologiques des graines de chaque variété de <i>Phaseolus vulgaris</i> et de <i>Vigna unguiculata</i> testées.....	93
Figure 34. Combinaisons des graines des cultivars de haricot présentées aux mâles et aux femelles fécondés d' <i>A. obtectus</i> dans les tests à deux choix. CB : haricot témoin, RB : haricot rouge, WB : petit haricot blanc, BB : haricot brun, YB : haricot jaune moucheté et COB : haricot dolique.....	94
Figure 35. Olfactomètre à quatre voies utilisé dans le test par olfactométrie des substances volatiles émises par les cultivars de haricot testés à l'égard des adultes d' <i>A. obtectus</i>	95
Figure 36. Dispositif expérimental de la méthode de microextraction en phase solide (SPME) des substances volatiles des cinq cultivars de haricot et du lot témoin.....	96
Figure 37. Pourcentage du choix initial des mâles et femelles gravides de <i>A. obtectus</i> sur les graines des cultivars de haricot contre le témoin (cultivar Rognon blanc) dans le test à deux choix en boîtes de Pétri	99
Figure 38. Pourcentage du choix initial des mâles et femelles gravides d' <i>A. obtectus</i> en olfactométrie à deux choix	101
Figure 39. Pourcentage du choix initial (A) et le temps de choix moyen (secondes) (B) des mâles et femelles gravides d' <i>A. obtectus</i> en olfactomètre à quatre choix.....	102
Figure 40. Pourcentages relatifs des 10 plus abondants COVs collectés à partir des graines des cultivars de haricot et identifiés par la méthode HS-GCMS.....	105
Figure 41. Les pourcentages relatifs du Linalool-limonène quantifiés dans les graines des cultivars de haricot par la méthode HS-GCMS.....	105
Figure 42. Représentation graphique des résultats de l'AFC sur les 5 cultivars de <i>Phaseolus vulgaris</i> et un cultivar de <i>Vigna unguiculata</i> et les 34 COVs identifiés par GC-MS	107

Liste des tableaux

Tableau 1. Surface cultivée, rendement et production de haricot sec en Algérie entre 2000 et 2011	7
Tableau 2. Surface cultivée, rendement et production de haricot sec dans les wilayates productives d'Algérie pour l'année 2007	8
Tableau 3. Durée des différentes phases du cycle de vie d' <i>A. obtectus</i> dans les graines du haricot (m±s).	22
Tableau 4. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres sur la longévité des adultes d' <i>A. obtectus</i>	35
Tableau 5. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres sur la fécondité des adultes d' <i>A. obtectus</i>	37
Tableau 6. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres sur la fertilité des femelles d' <i>A. obtectus</i>	38
Tableau 7. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres sur la viabilité des œufs d' <i>A. obtectus</i>	39
Tableau 8. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres sur la perte en poids des graines de haricot commun	41
Tableau 9. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres sur le pouvoir germinatif des graines de <i>Phaseolus vulgaris</i>	43
Tableau 10. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur les paramètres biologiques d' <i>Acanthoscelides obtectus</i>	43
Tableau 11. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur les caractéristiques agronomiques de la graine de <i>Phaseolus vulgaris</i>	44
Tableau 12. Pourcentage des composants chimiques de l'huile essentielle de la bergamote .	54
Tableau 13. Principaux constituants de l'huile essentielle de la menthe poivrée	56
Tableau 14. Pourcentages de répulsion selon le classement de Mc Donald et <i>al.</i> (1970).	59

Tableau 15. Taux moyens de répulsion des huiles essentielles des plantes aromatiques contre les adultes de la bruche du haricot (<i>Acanthoscelides obtectus</i>) et leur classement selon la méthode de Mc Donalds et <i>al.</i> (1970).	78
Tableau 16. Classification des substances allélochimiques volatiles basées sur les types d'interaction avec le monde animal	88
Tableau 17. Classification des substances volatiles émises par les plantes basée sur la composition chimique et l'origine biochimique.....	89
Tableau 18. Temps moyen de choix (sec.) \pm SE nécessaire aux mâles et aux femelles d' <i>A. obtectus</i> pour choisir les graines des différents cultivars versus le témoin.....	100
Tableau 19. Temps moyen total (sec.) \pm SE passé par les mâles et les femelles d' <i>A. obtectus</i> sur les graines des différents cultivars versus le témoin	100
Tableau 20. Temps de choix moyen (sec.) \pm SE des mâles et des femelles gravides d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> en olfactométrie à deux choix.....	102
Tableau 21. Pourcentages relatifs des COVs collectés par SPME (DVB/CAR/PDMS - 50/30 μ m Supelco) à partir des grains de 5 cultivars de <i>P. vulgaris</i> et un cultivar de <i>V. unguiculata</i> identifiés par GCMS.....	104
Tableau 22. Valeurs propres et pourcentages de variance de l'AFC cultivars/COVs	106
Tableau 23. Moyennes (\pm Ecart Type) de la longévité des adultes, la fécondité et la fertilité des femelles, de la viabilité des œufs d' <i>A. obtectus</i> sur les graines des différents cultivars de haricot.....	114
Tableau 24. Moyennes (\pm Ecart Type) de la perte en poids et du taux de germination des graines des différents cultivars de haricot infestées par 5 couples d' <i>A. obtectus</i>	115

Liste d'abréviations

AFC : Analyse Factorielle des Correspondances

AMU : Atomical Mass Unit (Unité de Masse Atomique)

ANOVA : Analyse de la Variance

COVs : Composés Organiques Volatils

DVB/CAR/PDMS : Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane

GC-MS : Gas Chromatography-Mass Spectrometry (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)

HE : Huiles Essentielles

HS : Head Space (Espace de tête)

PR : Pourcentage de Répulsion

RI : Retention Index (indice de rétention)

SE : Standard Error (Erreur standard)

SPME : Solid Phase Micro Extraction (microextraction en phase solide)

La culture des légumineuses vivrières est reconnue comme étant l'une des meilleures et des moins coûteuses des solutions pour l'alimentation des populations des pays en voie de développement (Soltner, 1990). D'autant plus que près de 90% de la consommation humaine de légumineuses se produit dans ces pays (Gordon, 2002).

En effet, les légumes secs sont les aliments d'origine végétale les plus riches en protéines. Les graines de légumineuses contiennent deux ou trois fois plus de protéines que les céréales et renferment les 24 acides aminés indispensables à l'alimentation humaine ce qui peut pallier le manque de protéines animales (Frénot et Vierling, 2001). Outre leur valeur alimentaire, certaines légumineuses représentent une source naturelle de vitamines, d'oligo-éléments et de sels minéraux indispensables à l'organisme.

Malheureusement, ces cultures se caractérisent très souvent par des rendements faibles et instables. Cela s'explique d'une part par leur sensibilité aux contraintes abiotiques (froid, chaleur, dégradation des sols) et aux contraintes biotiques (maladies et insectes ravageur) et d'autre part par l'absence de variétés résistantes ou tolérantes à ces contraintes (Baudoin, 2001).

Les pays du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord importent plus de denrées agricoles qu'ils n'en exportent. En 2000, cette région a importé 7% des denrées agricoles échangées mondialement, mais a importé 18% des légumineuses (Gordon, 2002). Les importations de haricots secs ont grimpé de 91% de 1990 à 2000 pour atteindre 100 000 tonnes. Cette hausse était due pour une bonne part à l'Algérie, au Maroc, à la Turquie et à la Tunisie.

En Algérie, les légumes secs ont enregistré des hausses pour les quantités importées à l'exception des lentilles et des pois secs qui ont connu des baisses respectives de (-14%) et (-85%) et qui s'explique par l'accroissement de la production locale annuelle (60.000qx de pois secs et 27.000qx de lentilles entre 2010 et 2011).

Les importations de haricots secs sont passées de 28 548 tonnes en 2010 à 32 598 tonnes en 2011. Certes, la production agricole locale a connu un essor ces dernières années notamment, en légumes secs (+25%), néanmoins les importations constituent l'essentiel des disponibilités sur le marché intérieur et ce, en dépit des hausses des prix sur les marchés extérieurs (Anonyme, 2011).

Outre les pertes de rendement enregistrées au champ, le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) subit des dégâts considérables pendant le stockage. Ainsi, des quantités importantes de grains de légumineuses sont perdues chaque année conséquence d'une mauvaise maîtrise des conditions de stockage. La production du haricot, déjà affectée par les aléas climatiques, se trouve limitée par les pertes occasionnées par des champignons surtout les moisissures (Bulter et Day, 1998) et des insectes coléoptères Chrysomélidés (Bruchinae) qui rendent très difficiles sa conservation post-récolte et qui causent une diminution directe du poids sec et des qualités technologique et nutritionnelle des grains (Balachowsky, 1962).

La bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Say 1831), figure parmi les ravageurs potentiels du haricot commun. C'est un insecte cosmopolite potentiellement ubiquitaire, pouvant infester sa plante hôte *P. vulgaris* L. à la fois au champ et dans les entrepôts. C'est une bruche qui n'a pas de diapause imaginale, son évolution peut donc se poursuivre indéfiniment dans les graines stockées pourvu que les conditions de développement soient optimales (Labeyrie, 1962). Elle peut même infester d'autres légumineuses originellement non hôtes telles que le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), la fève (*Vicia faba* L.) et le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995). Les larves de cet insecte, ptyvoltin dans les stocks, se développent à l'intérieur des graines et consomment les réserves contenues dans les cotylédons (Huignard et al., 1986 ; Huignard et al., 2011). Elles occasionnent ainsi, des pertes totales des grains de haricots après 16 semaines de stockage (Schmale et al., 2002).

Face à la menace que constituent ces bruches, les moyens de lutte sont essentiellement articulés autour de l'utilisation d'insecticides chimiques surtout les fumigants dont l'efficacité est certaine. Cependant, les innombrables nuisances associées à leur utilisation telles que leur toxicité, la perturbation de l'équilibre biologique de l'écosystème et le développement de souches résistantes, imposent la recherche de nouvelles méthodes alternatives de lutte contre ce ravageur.

Dans cette optique, la valorisation des plantes aromatiques à effet insecticide prend de plus en plus de l'ampleur au niveau des programmes de recherches dans le monde entier et particulièrement en Afrique. Ces plantes sont exploitées sous plusieurs formes afin de limiter les pertes post récoltes soit entières, soit sous forme de poudres végétales, d'huiles essentielles, d'huiles végétales ou d'extraits végétaux. Parmi les méthodes de lutte biologique, l'utilisation de variétés de haricot dont les caractéristiques des graines pourraient inhiber fortement le développement des bruches serait également une alternative aux insecticides chimiques moins polluante pour l'environnement (Regnault-Roger, 2002 ; Ketoh et al., 2004).

En effet, les graines de haricot émettent des bouquets floraux constitués de composés organiques volatils (COVs) spécifiques à chaque variété qui pourraient être à l'origine d'une résistance de certaines variétés vis-à-vis de la bruche du haricot.

Dans ce contexte, nous nous proposons d'étudier, au cours de ce travail de recherche, l'effet bioinsecticide des poudres végétales et des huiles essentielles de plusieurs plantes aromatiques présentes en Algérie sur les adultes de la bruche du haricot. Les poudres des feuilles du basilic commun, de la menthe verte, de la sauge, du thym (Lamiacées), d'eucalyptus (Myrtacées), du laurier noble (Lauracées), de la fève, du petit pois, du genêt et du robinier (*Robinia pseudoacacia* L.) (Légumineuses) ont été testées par contact uniquement alors que les huiles essentielles de citronnier, mandarinier, bergamotier (Rutacées), lavande, menthe poivrée et thym (Lamiacées), eucalyptus (Myrtacée), laurier noble (Lauracée) et cèdre de l'Atlas (Pinacées) ont été testées par contact, par inhalation et par répulsion. L'impact de ces divers traitements sur les graines est déterminé à travers l'évaluation de la faculté germinative et de la perte en poids des graines.

Parallèlement, nous nous proposons de déterminer quels sont les cultivars de haricots attractifs ou répulsifs à l'égard de la bruche du haricot et à quel point le choix des adultes fécondés est-il influencé par les COVs émis par ces cultivars en tenant compte des facteurs olfactifs et visuels ou bien olfactifs uniquement. Cette étude du comportement est complétée par l'analyse des composés organiques volatiles émis par ces différents cultivars en utilisant les méthodes de microextraction en phase solide (headspace SPME, solid phase microextraction) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Une étude bioécologique de la bruche du haricot est réalisée sur les cultivars considérés afin de voir quels sont les cultivars les plus résistants et les plus sensibles.

Dans les chapitres I et II, nous présentons une synthèse bibliographique sur la plante hôte *P. vulgaris* et son importance et sur son ravageur *A. obtectus*. Les chapitres III, IV, V et VI, exposent les matériels et les méthodes de travail utilisées ainsi que les résultats obtenus et leurs discussions pour chaque partie à savoir

- le cycle biologique de la bruche du haricot ;
- l'activité insecticide des poudres de feuilles de plantes locales sur *A. obtectus* ;
- l'activité insecticide des huiles essentielles des plantes aromatiques sur *A. obtectus* ;
- l'effet des composés organiques volatils de quelques cultivars de haricot sur le comportement de la bruche du haricot.

Enfin, nous terminons la présente étude par une conclusion générale et des perspectives de recherche.

1. Origine et répartition géographique

Le haricot commun et les haricots du genre *Phaseolus* sont originaires d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud. Il fut domestiqué en Amérique Centrale et dans les Andes d'Amérique du Sud pendant plus de 5000 ans avant d'être transporté vers d'autres continents depuis le XVI^e siècle (Bernal et Graham, 2001 ; Silué, 2009) pour être rapidement diffusé dans les zones méditerranéennes et subtropicales du globe (Péron, 2006). L'espèce est bien établie dans de nombreux pays africains où elle a été introduite par les Portugais au XX^e siècle.

Le haricot commun est produit principalement en Amérique Latine et en Afrique ; il est répandu surtout dans la zone Amazonienne du Brésil, dans les Cordillères des Andes et en Amérique Centrale, tandis qu'en Afrique, il est produit principalement en Afrique Centrale et Orientale (Nyabyenda, 2005). Selon Huignard et *al.* (2011), cette plante est cultivée en plein champs dans de nombreux pays d'Afrique subsaharienne et en Afrique du Nord afin de produire des gousses vertes qui sont exportées vers l'Europe notamment par le Maroc (principal producteur).

2. Position systématique

Le genre *Phaseolus* se classe dans la sous tribu des *Phaseolinae*, tribu des *Phaseoleae*, famille des *Fabaceae* et ordre des *Fabales* (Cronquist, 1981). Parmi les *Phaseolinae*, les genres *Phaseolus* et *Vigna* sont les plus importants et contiennent à eux seuls le plus grand nombre d'espèces cultivées comme légumineuses vivrières.

La section *Phaseolus* est la plus importante et compte 56 espèces dont cinq espèces cultivées à savoir *P. acutifolius* Gray, *P. coccineus* L., *P. lunatus* L., *P. polyanthus* Greenm ainsi que le haricot commun, *P. vulgaris* L. qui présentent un intérêt pour l'agriculture (Polèse, 2006). Ce sont des plantes herbacées, annuelles diploïdes au nombre chromosomique de $2n = 22$ et dont le cycle est de 90 à 120 jours (Baudoin et *al.*, 2002 ; Péron, 2006).

3. Valeur nutritionnelle

Etant riche en protéines, le haricot joue un grand rôle dans la couverture des besoins alimentaires en protéines pour les populations des pays en voie de développement et compense le manque de sources de protéines animales pour une grande partie de la population (Nyabyenda, 2005).

En effet, les haricots secs constituent une excellente source de protéines (localisées presque exclusivement dans les cotylédons et constituées principalement d'albumines (10 à

20%) et de globulines (60 à 90 %) et complètent celles venant du blé, de l'orge, de l'avoine, du seigle et du maïs car elles ont un profil en acides aminés plutôt opposé à celui des céréales. Elles se caractérisent en général par des teneurs élevées en lysine et relativement faibles en acides aminés soufrés (Calet, 1992 ; Gueguen et Lemarié, 1996).

De plus, d'après Soltner (1990), les graines des légumineuses sont plus riches en calcium que celle de la plupart des céréales et leur teneur en protéines est de 20 à 40% pour 100 g de matière sèche soit deux fois plus que celle des Graminée.

Cependant, les légumineuses renferment d'autres protéines rassemblées sous le vocable de "facteurs antinutritionnels" dont les principaux sont les inhibiteurs de la trypsine et les phyto-hémagglutinines (ou léctinines). D'autres éléments non protéiques apparaissent également comme antinutritionnels comme les tanins, les pectines et la cellulose (Calet, 1992).

Les haricots secs ont une faible teneur en gras, ne contiennent pas de cholestérol et sont une excellente source de fibres solubles. Ils constituent une source importante d'énergie puisqu'ils sont riches en glucides complexes. Ils fournissent une grande quantité de vitamines B, de Calcium, de Fer, de Phosphore, de Potassium et de Zinc ; cependant, ils ne contiennent pas de gluten et contiennent très peu de Sodium (Huignard *et al.*, 2011).

4. Intérêt agro économique

4.1. Intérêt agronomique

Comme toutes les autres légumineuses, le haricot est capable de former des nodules pour la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique grâce à la symbiose avec des bactéries du sol du genre *Rhizobium* (Nyabyenda, 2005). Cette aptitude à fixer l'azote atmosphérique constitue un atout environnemental important puisqu'elle limite l'utilisation des engrais azotés d'origine minérale ou organique.

Les légumineuses sont avant tout considérées comme des plantes améliorantes dans l'assolement et constituent des excellents précédents culturaux pour le blé, elles ne sont donc pas souvent destinées à recevoir de l'engrais azoté ni d'ailleurs d'autres éléments minéraux (Baudoin *et al.*, 2002). Elles jouent un rôle très important dans l'amélioration de certains sols comme ceux des régions tropicales et ceux qui sont déficitaires en cet élément (Doree, 2000).

Dans les sols très pauvres en azote, telles que les zones tropicale, les Légumineuses peuvent être utilisées efficacement comme alternative à la fertilisation notamment dans les pays pauvres ou en voie de développement (Roland, 2002). En effet, d'après Guy (1985), le

haricot joue un rôle déterminant dans la nutrition azotée pour l'ensemble des cultures dans une rotation.

Les légumineuses vivrières sont très souvent cultivées en association avec du sorgho (*Sorghum bicolor* L.), du mil (*Pennisetum glaucum* L.) ou du maïs (*Zea mays* L.). Cette association se révèle bénéfique pour les deux plantes. Les racines des légumineuses libèrent dans le sol des composés azotés qui vont être utilisés par les céréales et améliorent le rendement. L'association culturale permet aussi une économie de l'espace en produisant deux plantes vivrières sur une même parcelle. Elle assure également une certaine protection phytosanitaire, les céréales formant une canopée qui rendrait plus difficile la découverte de la légumineuse par les insectes ravageurs (Huignard et *al.*, 2011).

4.2. Intérêt économique

La production mondiale de haricots secs a évolué progressivement à la hausse au cours des années 90 et a atteint 19,37 millions de tonnes en 1999/2000 dont 75% est attribuable aux dix principaux pays producteurs dont l'Inde, le Brésil, les Etats-Unis et la Chine (Gordon, 2000). Notons que 85% des haricots secs sont consommés dans les pays où ils sont cultivés. En 2006, la production moyenne mondiale de haricot s'est élevée à 28,6 millions de tonnes avec un rendement moyen de 7,4qx/ha (FAO, 2006).

En Afrique, le haricot a une grande importance économique et alimentaire pour la population, il couvre 22% de leurs besoins en protéines et 11% du revenu des paysans et produit 2 millions de tonnes/an sur environ 3,5 millions d'hectares (Brink et Belay, 2006). Les principales légumineuses cultivées en Afrique du Nord sont dans l'ordre croissant la fève, le pois chiche, la lentille, le pois et le haricot et sont dans la plupart des cas consommées localement (Huignard et *al.*, 2011). Les importations de haricots secs au Moyen Orient et en Afrique du Nord (6% des importations mondiales), ont grimpé de 91% de 1990 à 2000 pour atteindre 100 000 t ; cette hausse des importations est due principalement à l'Algérie, le Maroc, la Turquie et la Tunisie (Gordon, 2002).

En Algérie, la culture des légumineuses est d'un grand intérêt car elle doit permettre de satisfaire les besoins, réduire les importations et limiter la dépendance économique vis-à-vis de l'étranger (Boudjenouia et Fleury, 2002).

Depuis la restriction du secteur agricole et sa libération, les cultures de haricot ont connu des perturbations arbitraires qui ont comme conséquences une réduction de la superficie, une chute de la productivité et une marginalisation accentuée par le manque de soutien direct et d'encouragement à ce secteur comme c'est le cas pour les céréales, la pomme de terre et le lait. En parallèle, les importations ont largement augmenté pour tenter de satisfaire la consommation humaine (Ferhad et Hireche, 2002).

L'Algérie est considérée comme un grand consommateur de légumes secs, cependant, les superficies réservées à cette culture restent limitées (FAO, 2004). A l'échelle nationale, les productions connaissent des fluctuations notables d'une année à une autre (Tab. 1). Les données statistiques du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) montrent une production moyenne, pour l'Algérie, estimée à 0,72 t/ha avec une surface totale d'environ 1616 hectares en 2009.

Tableau 1. Surface cultivée, rendement et production de haricot sec en Algérie entre 2000 et 2011 (FAO, 2013).

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Surface	1280	1180	1190	1560	1990	1206	1496	1394	1300	1616	1210	1200
Cultivée	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
(Ha)												
Rendement	327,3	622	726	702,5	793,6	552,2	611,6	657,8	615,3	720	694,2	666,7
(Kg/Ha)	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc	Fc
Production	419	734	864	1096	1581	666	915	917	800	1158	840	800
(Tonnes)												

F : estimation de la FAO. Fc : données calculées

Le tableau 2 montre que les wilayates de l'Ouest (Ain Temouchent, Tlemcen et Mostaganem) détiennent les superficies et les productions les plus élevées. La wilaya de Tizi-Ouzou, quant à elle, présente des superficies faibles. En 2009, la production moyenne dans la wilaya de Tizi-Ouzou est estimée à 1,01 t/ha avec une surface totale d'environ 33 ha.

Tableau 2. Surface cultivée, rendement et production de haricot sec dans les wilayates productives d'Algérie pour l'année 2007 (ITGC, 2008).

Wilayates	Superficie (Ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/Ha)
A.Temouchent	700	4200	6
Tlemcen	290	1750	6
Mostaganem	100	800	8
Skikda	99	820	8,3
Oran	71	300	4,2
Mascara	56	640	11,4
Souk-Ahras	30	270	9
Tipaza	23	190	8,3
Tizi-Ouzou	13	100	7,7
Jijel	7	50	7,1
Boumerdes	5	50	10
Algérie (Total)	1394	9170	6,6

1. Introduction

Les insectes de la sous famille des Bruchinae (Coleoptera : Chrysomelidae) sont considérés comme les plus nuisibles aux Légumineuses potagères et fourragères, notamment la famille des Fabaceae, dont elles détruisent les graines (Tuda, 2007). Ainsi, trente trois familles végétales peuvent servir de plantes hôtes aux bruches dont 84% sont des Légumineuses (Southgate, 1979).

Les Bruchinae comptent plus de 60 genres et 1700 espèces décrites à ce jour, représentant ainsi une petite minorité des 135000 espèces de Coléoptères phytophages dont les membres sont distribués sur tous les continents, particulièrement dans les régions chaudes du globe où la diversité spécifique est très importante (Southgate, 1979 ; Johnson et *al.*, 2004 ; Tuda, 2007).

Jusqu'au milieu du XIXe, les bruches sont incluses dans la famille des Curculionidae en raison de la segmentation homologue de leurs tarses (quatre segments apparents) et du profil allongé de leur tête (Borowiec, 1987). Massimiliano Spinola (1780-1857), les regroupa en 1843 dans une famille distincte, les Bruchidae. Plus tard, en 1845, Théodore Lacordaire (1801-1870) rattacha cette famille à l'ensemble des Phytophaga, Chrysomeloidea, un rattachement confirmé ultérieurement par John Lawrence Le Conte (1825-1883) et George Henry Horn (1840-1897) (Kergoat, 2004).

Ce statut de famille des Bruchidae, rarement remis en question, a prévalu pendant un siècle et demi et ce n'est qu'en 1981 que les travaux de Jasbir Singh Mann et Roy Crowson (1914-1999) ont remis en cause ce rang taxonomique. Cette question a fait l'objet de nombreux débats durant les deux dernières décennies (1990-2010) et semble déboucher actuellement sur un consensus qui place les bruches dans la sous-famille des Bruchinae, au sein des Chrysomelidae (Johnson et Romero, 2004 ; Tuda, 2007).

Cette sous-famille compte 64 genres de bruches connus à ce jour (Kergoat, 2004), répartis en six tribus :

- *Amblycerini* – Bridwell 1932 : compte 3 genres dont *Zabrotes*, Horn 1885 ;
- *Bruchini* – Latreille 1802 : compte 46 genres dont *Acanthoscelides*, Schilsky 1905, *Bruchus*, Linnaeus 1767 et *Callosobruchus*, Pic 1902 ;
- *Eubaptini* – Bridwell 1932 : présente un seul genre, *Eubaptus*, Lacordaire 1845 ;

- *Kytorhinini* – Bridwell 1932 : représentée par un genre, *Kytorhinus*, Fischer Von Waldheim 1809 ;
- *Pachymerini* – Bridwell 1929 : compte 12 genres dont *Caryedon*, Schoenherr 1823 ;
- *Rhaebini* – Chapuis 1874 : représentée par un genre, *Rhaebus*, Fischer Von Waldheim 1824.

Les bruches sont caractérisées par une forme courte, ramassée et globuleuse dont la taille oscille entre 1,3 et 5 mm (Balachowsky, 1962). Les adultes pondent sur les gousses ou les graines de leurs plantes hôtes et les larves se développent en consommant les réserves contenues dans les cotylédons des graines.

Les larves évoluées des Bruchinae sont de type « rynchophorien » subissant 4 à 6 mues au cours de leurs évolution, sont courbées, grasses, blanches apodes ou pourvues d'ébauches de pattes spiniformes avec une tête sclérifiée. Cependant, chez les *Acanthoscelides* la larve néonate de type « chrysomélien », présente des pattes articulées bien développées et de longues soies abdominales dites « locomotrices ». Celles-ci ne servent pas spécialement à la locomotion puisque la larve néonate se déplace par reptation ou simple détente du corps (Balachowsky, 1962).

Selon le même auteur, les bruches pondent, en général, sur les organes épigés de leurs plantes hôtes, essentiellement des Légumineuses, le plus souvent sur les fleurs ou les jeunes fruits ou graines. Cependant, certaines espèces peuvent évoluer dans les racines, les tiges de leurs plantes hôtes comme *Bruchidius cinarescens* Gylls.

Bien qu'elles ne soient pas très nombreuses (proportions d'espèces), certaines d'entre elles sont des ravageurs notoires des denrées stockées avec un taux de croissance intrinsèque très élevé en comparaison aux autres ravageurs des graines entreposées (Imura, 1990 *in* Tuda, 2007). Ils incluent plusieurs espèces de *Callosobruchus*, *Acanthoscelides* et *Zabrotes* inféodées aux Légumineuses (Tribue : Phaseoleae : *Phaseolus*, *Vigna*, ...) et d'espèces de *Caryedon* inféodées aux graines d'arachides (*Arachis hypogaea*) (Southgate, 1979). Les espèces de *Bruchus* inféodées aux fèves et aux pois (Tribue : Fabeae : *Vicia*, *Pisum*, ...) sont bien différentes des autres bruches puisqu'elles ne se reproduisent pas sur des graines dures et sèches de pois ou de fèves d'où elles ne pourraient pas occasionner des dégâts supplémentaires lors du stockage.

Ainsi, sur le plan éthologique, Loukianovitch cité par Hoffmann et Labeyrie (1962), distingue trois groupes de bruches :

- **Groupe 1**

Ce groupe comprend les espèces dites monovoltines dont le développement post-embryonnaire s'effectue à l'intérieur des graines au cours de maturation (graines vertes en voie de croissance). L'évolution larvaire se fait parallèlement à la croissance des graines tendres. Ce type de bruches, incapable de se reproduire et de se développer dans les systèmes de stockage, hiverne à l'état imaginal, le plus souvent en diapause dans la graine ou en dehors de la graine (dans le sol, sous les écorces, ...). C'est le cas des espèces du genre *Bruchus* (*B. rufimanus* Boh. Inféodé à la fève *V. faba* et *B. pisorum* inféodée au pois *Pisum sativum*) rencontrées au Maghreb et au Moyen-Orient.

- **Groupe 2**

Il comprend les espèces dont le développement post-embryonnaire s'effectue soit dans la graine à différents degrés de maturation puis dans les graines sèches. Cette catégorie de bruches dites polyvoltines, ne présente pas de diapause imaginale et leur évolution peut se poursuivre sur plusieurs générations dans les stocks après la récolte. En général, une même graine peut être infestée par plusieurs larves. Comme est le cas de *Callosobruchus maculatus* Fab. qui se développe sur le niébé (*V. unguiculata*) et dont les femelles collent leurs œufs sur les gousses vertes et les gousses sèches.

- **Groupe 3**

Ce groupe est représenté par des espèces à plasticité comportementale plus limitée car leurs femelles ne pondent qu'en présence de gousses sèches en culture ou de graines sèches dans les entrepôts. Ce groupe inclut les espèces inféodées à l'arachide (*Careydon serratus* Ol.) et celles inféodées aux *Phaseolus* (*A. obtectus* Say et *Zabrotes subfasciatus* Boh.).

2. Caractéristiques de la bruche du haricot

A. obtectus est un insecte oligophage de l'ordre des Coléoptères et de la sous famille des Bruchinae, dont le développement post embryonnaire s'effectue dans les graines de

Légumineuses (Fabacées). *Phaseolus vulgaris* est considérée comme sa principale plante hôte.

2.1. Position systématique

Selon Balachowsky (1962), *A. obtectus* occupe la position systématique suivante :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Classe :	Insecta
S/Classe :	Pterygota
Ordre :	Coleoptera
S/Ordre :	Polyphaga
Famille :	Bruchidae
Sous-famille :	Bruchinae (Latreille, 1802)
Genre :	<i>Acanthoscelides</i>
Espèce :	<i>A. obtectus</i> (Say, 1831)

Selon Lawrence et Newton (1995), la famille des Bruchidées est actuellement une sous-famille des Chrysomélidées

2.2. Origine et répartition géographique

A. obtectus est originaire des régions andines équatoriales en Amérique du Sud. C'est un ravageur des zones tropicales et subtropicales qui a suivi l'importation récente du haricot de l'Amérique centrale vers l'Amérique du Nord, l'Europe puis vers l'Afrique (Huignard et al., 2011). Son aire d'expansion s'est développée de l'Espagne à l'Ukraine, au milieu du XIXe siècle jusqu'au début du XXe (Serpeille, 1991). Son introduction en Europe aurait suivi de peu celle du haricot ; Chittenden (1892) note sa présence dans toute la région méditerranéenne et même en Iran (Labeyrie, 1962).

De nos jours, le haricot est cultivé dans le monde entier, la répartition de l'insecte est cosmopolite avec un grand pouvoir migratoire en raison de son cycle de vie polyvoltin. Cette particularité en fait un ravageur dont la dispersion est très liée aux sociétés humaines et dont l'expansion est, de ce fait, potentiellement illimitée (Alvarez et al., 2005).

2.3. Description de l'espèce

2.3.1. L'œuf

Les œufs d'*A. obtectus* sont blancs et lisses de forme cylindrique (Fig. 1a) et n'adhèrent pas étroitement au substratum. Ils mesurent 0,75 mm de long, étroits, avec un pôle antérieur légèrement plus large que le postérieur (Labeyrie, 1962).

2.3.2. La larve

Le développement larvaire d'*A. obtectus* se fait en quatre stades. La larve néonée de type chrysomélien est blanchâtre et mesure 0,6 mm de long sur 0,2 mm de large (Fig. 1bc). Elle est pourvue de pattes fines et de plaques prothoracique et anale caractéristiques. Peu après son entrée dans la graine, la larve mue pour la première fois et passe au second stade apode de type rhynchophorien (L₂) (Labeyrie, 1962). Selon Khelil (1977), celle-ci subira encore deux autres mues pour achever son développement larvaire (L₃ et L₄) (Fig. 2a).

Le développement larvaire se termine par une fabrication soignée d'une loge nymphale juste sous le tégument. La nymphose dure de 15 à 18 jours (Labeyrie, 1962).

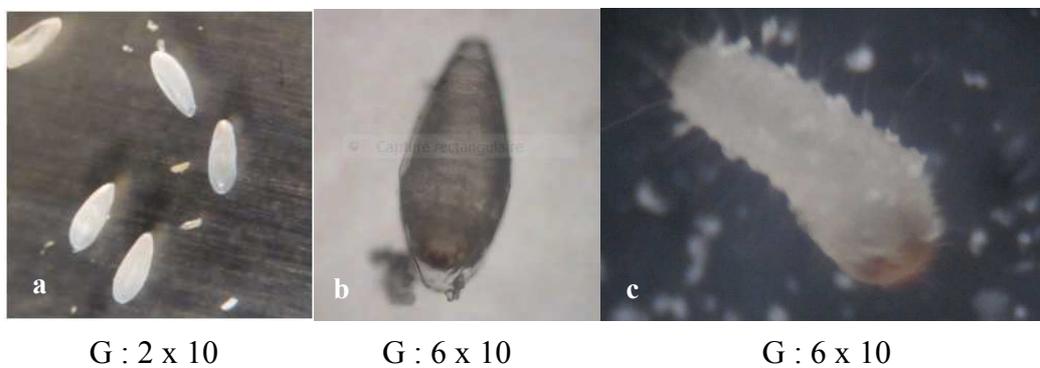


Figure 1. Morphologie du stade œuf (a) et de la larve L₁ avant (b) et après sa sortie de l'œuf (c) d'*Acanthoscelides obtectus* (Originale, 2013).

2.3.3. La nymphe

La nymphe de couleur blanchâtre, ressemble à l'adulte qui n'a pas encore acquis sa couleur brune (pigmentation et sclérotinisation) (Fig. 2b).



Figure 2. Morphologie des stades larvaires L₂, L₃ et L₄ (a) et de la nymphe (b) d'*Acanthoscelides obtectus* (G : 2 x 10) (Originale, 2013).

2.3.4. L'adulte

L'adulte d'*A. obtectus* mesure 2,5 à 3 mm de long sur 1,7 à 1,9 mm de large, mais il arrive que dans les cas des populations à effectif élevé sa taille soit plus réduite. Le corps est brun ferrugineux et recouvert partout de soies dorées courtes, couchées vers l'arrière (Labeyrie, 1962). D'après Balachowsky (1962), les antennes présentent 11 articles dont les cinq premiers sont roux avec une tache apicale noire ; les cinq suivants sont presque entièrement noirs et l'article terminal est roux. Les fémurs postérieurs sont pourvus de trois dents dont la basale est très développée (Fig. 3a).

La différence entre le mâle et la femelle (Fig. 3b) est très tôt visible dès l'émergence. Le mâle, de taille généralement plus faible, peut être distingué par un caractère mis en évidence par Perris (1874) : le pygidium échancre largement le dernier anneau ventral du mâle qui reste entier chez la femelle ; ce caractère est bien apparent chez la bruche du haricot (Balachowsky, 1962).

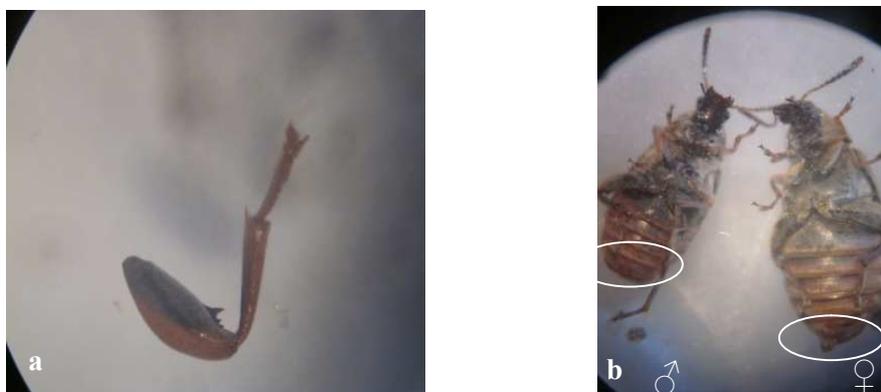


Figure 3. Morphologie et dimorphisme sexuel des adultes d'*Acanthoscelides obtectus*. **a.** Fémur postérieur pourvu de trois dents (G : 4x10) ; **b.** dimorphisme sexuel (G : 2 x 10) (Originale, 2013).

2.4. Biologie d'*Acanthoscelides obtectus*

La bruche du haricot peut évoluer dans deux milieux totalement différents à savoir les cultures et les graines entreposées. L'éthologie des adultes est complètement modifiée par ce changement de milieu car les exigences phénologiques des femelles dans la nature disparaissent dans les entrepôts (Labeyrie, 1962).

Les adultes commencent à s'accoupler quelques heures après leur émergence. La copulation a lieu plusieurs fois au cours de leur existence et dure généralement sept minutes (Huignard, 1968 *in* Khelil, 1977) mais peut aller jusqu'à dix minutes (Dungelhoff et Schmitt, 2006).

Le dépôt des œufs a lieu le plus souvent sur les graines ou entre les graines, mais il peut se produire aussi sur les emballages. Le nombre d'œufs pondus par une femelle est de 50 à 100 (Balachowsky, 1962).

Les adultes hibernent à l'intérieur des graines de haricot et sortent de celles-ci à la fin du mois d'avril ; ils ne s'alimentent pas mais s'accouplent (Bonnemaison, 1962).

La ponte a été décrite par Zachariae (1959 *in* Balachowsky, 1962), la femelle se place à la hauteur de la suture dorsale de la gousse, plus rarement de la suture ventrale, elle ronge la gousse au point de contact des deux valves et creuse un trou étroit et profond puis dépose les œufs en paquets de 2 à 20 et parfois plus et la ponte est faite exclusivement dans les gosses qui commencent à jaunir et jamais dans les gosses entièrement sèches.

Suivant la température, la durée d'incubation est de 3 à 5 jours. La larve primaire circule pendant quelques heures à la surface de la gousse puis traverse celle-ci ; elle pénètre dans la graine 2 à 3 jours après sa naissance. Elle mue et se transforme en une larve apode. La durée du développement larvaire est très variable, elle est de 3 semaines en moyenne. La larve découpe un opercule dans la paroi de la graine et se nymphose.

La durée moyenne de développement de l'œuf à l'adulte est de trente jours à une température de 27°C et d'humidité relative de 70%. Au champ il y a qu'une seule génération par an. L'insecte hiverne à l'intérieur des graines et ne reprend son activité qu'au printemps avec l'élévation de la température (Goix, 1986).

Cependant, durant le stockage, il peut y avoir quatre à cinq générations successives dans les entrepôts avec d'importants dégâts à chaque génération (Decelle, 1981). Les imagos sont capables de vivre sans s'alimenter, leur longévité varie dans ce cas en fonction de la température et de l'hygrométrie, 35 jours à 15°C et 10 jours à 30°C. Il semblerait que la

longévité des mâles est plus réduite que celle des femelles. Lorsque les femelles sont nourries au miel leur longévité peut aller jusqu'à 89 jours (Labeyrie, 1962).

Lorsque la bruche est en présence de contraintes environnementales, elle réagit par l'effet de la thanatose (catalepsie) qui est la simulation de la mort (Khelil, 1977).

2.5. Dégâts et pertes

Les dégâts causés par ce ravageur sont dus exclusivement aux larves qui s'alimentent du contenu des graines. Après plusieurs mois d'infestation, les graines de haricots montrent des perforations, avec présence d'insectes adultes et de larves qui continueront leur évolution à l'intérieur des gaines (Goix, 1986).

Selon Idi (1994), les pertes en poids occasionnées dans les stocks peuvent être estimées à plus de 80% après six à sept mois de stockage affectant leur faculté germinative ainsi que leur valeur marchande (Fig. 4). Les haricots contaminés ont un goût les rendant impropre à la consommation pour l'homme (Balachowsky, 1962). En outre, des pertes indirectes peuvent être engendrées par l'invasion par des microorganismes des orifices laissés par les adultes après émergence (Baldin et Lara, 2008).



Figure 4. Graines de haricot avant et après la contamination par *Acanthoscelides obtectus* (Originale, 2013).

3. Moyens de lutte

Il existe plusieurs méthodes qui permettent de maintenir les populations des ravageurs à un niveau assez bas pour que les dégâts occasionnés soient économiquement tolérables. A côté des différentes mesures prophylactiques telles la récolte des haricots en temps opportun, leur séchage avant le stockage ainsi que les conditions adéquates d'entreposage (Kasambala et Hendry, 1986), la méthode la plus fréquemment utilisée pour lutter contre les bruches, est la lutte chimique (Lorini, 1998 ; Baldin et Lara, 2008) qui utilise souvent des fumigants notamment le bromure de méthyl et le phosphore d'hydrogène. L'intérêt de leur emploi est lié à leur diffusion à l'intérieur des graines, pouvant atteindre des formes cachées des ravageurs tels que les larves et les œufs et les nymphes (Stefan, 1964 *in* Kellouche, 2005). Cependant, la fumigation, bien qu'elle soit rapide et efficace, est très nuisible pour l'environnement et présente des risques sur la santé humaine (Lara, 1991 *in* Baldin et Lara, 2008).

De nos jours, la recherche de nouvelles méthodes de lutte à faibles répercussions écologiques est devenue une nécessité d'autant plus que la recommandation de l'OMS (1995) est en faveur de l'élimination des fumigants classiques en 2005 dans les pays développées et en 2015 dans les pays en voie de développement (Ketoh *et al.*, 2004).

Beaucoup de travaux de recherches se penchent aujourd'hui sur des méthodes alternatives de lutte contre les ravageurs des denrées stockées. Parmi elles, il y a l'utilisation de variétés résistantes liées essentiellement à leur composition en certains composés inhibiteurs d'enzymes tels que les inhibiteurs de protéases, d'alpha amylases et les arcelines (Baldin et Lara, 2008). Des travaux antécédents ont également montré le rôle des ennemis naturels dans la lutte biologique contre les bruches, c'est notamment le cas de l'ectoparasite *Dinarmus basalis*, agent de contrôle promettant contre *A. obtectus* (Schmale *et al.*, 2006).

D'autres investigations s'orientent vers les plantes aromatiques dont les poudres, les huiles essentielles et même les cendres peuvent agir efficacement sur les différents stades de développement des bruches. Leur efficacité a pu être montrée par de nombreux travaux à travers le monde, mais aussi en Algérie, tels que ceux de Khelil (1977), Bouchikhi Tani (2006), Bouchikhi Tani *et al.* (2008) et Bouchikhi Tani *et al.* (2010) sur la bruche du haricot *A. obtectus*, de Kellouche et Soltani (2004), Kellouche *et al.* (2004) et Kellouche (2005) sur la bruche du niébé *C. maculatus* et de Righi-Assia (2010) et Righi-Assia *et al.* (2010) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus chinensis*.

3.1. Lutte biologique

La lutte biologique contre les ravageurs d'une culture est celle qui utilise les parasites ou les prédateurs de ces ravageurs en vue de diminuer leurs dégâts. Elle est pratiquée soit directement en introduisant dans les champs les ennemis du ravageur ou bien indirectement, en aménageant le milieu de culture de telle sorte qu'il accueille le plus grand nombre possible d'ennemis des principaux ravageurs des plantes cultivées (Dupriez et De Leener, 1987).

Les principaux ennemis naturels d'*A. obtectus* sont les Hyménoptères parasitoïdes tels que *Stenocorse bruchivora* (Braconidae), *D. basalis* et *Anisopteromalus calandrea* (Pteromalidae) ainsi que *Horismenus sp.* (Eulophidae). Ces espèces sont des ectoparasites solitaires du troisième et du quatrième stade larvaire et parasitent occasionnellement les pupes. Les femelles de ces guêpes combinent les informations visuelles, chimiques et mécaniques (telles que les vibrations) pour localiser leur hôte. *D. basalis* constitue un agent de contrôle potentiel contre *A. obtectus* car il réduit significativement les populations de la bruche du haricot, particulièrement lorsqu'il est introduit durant les premiers stades de développement de la bruche (Schmale et al., 2002 et 2006).

Les larves d'*A. obtectus* sont également attaquées par l'Acarien *Pyemotes* spp. (Bonnemaison, 1962).

3.2. Lutte par les plantes ou Phytothérapie

L'utilisation des substances naturelles des plantes en tant que biopesticides dans la protection des graines de légumineuses permet de limiter la toxicité des insecticides d'origines chimiques, ils se présentent sous plusieurs formes : extraits aqueux (Gwinner et al., 1996 ; Aouinty et al., 2006), extraits organiques (Regnault-Roger et al., 1993), huiles végétales (Kellouche, 2005) ainsi que les huiles essentielles et les poudres végétales qui seront traités dans les chapitres suivants.

1. Introduction

Comme pour tous les insectes Coléoptères, *A. obtectus* est un insecte holométabole dont le cycle de développement comporte quatre stades qui sont l'œuf, la larve la nymphe et l'adulte (Balachowsky, 1962). C'est une espèce polyvoltine et ne présente aucune diapause ni au stade adulte ni au stade larvaire (Huignard et al., 2011).

Alvarez et al. (2005), à l'aide de marqueurs mitochondriaux (mt DNA) et de marqueurs microsatellites nucléaires, ont étudié des populations d'*A. obtectus* originaires des différentes régions de son aire de répartition. Ces auteurs ont montré que le polyvoltinisme n'est pas une adaptation à la domestication de *P. vulgaris* par l'homme. En effet, les populations ancestrales d'*A. obtectus* se développent dans des zones équatoriales où des espèces de *Phaseolus* fleurissent et produisent des gousses durant toute l'année.

Dans les zones tempérées où la plante hôte n'est disponible que pendant une courte période de l'année, *A. obtectus* doit donc obligatoirement passer par le système de stockage pour réaliser son cycle biologique (Huignard et al., 2011).

Le cycle de développement d'*A. obtectus* commence dès la colonisation des cultures de haricot par les adultes, qui ont quitté les centres d'entreposage, et continue pendant le stockage à l'intérieur des graines mûres et sèches. Cet insecte est capable de réaliser son cycle de vie complètement dans les graines stockées sans retour au champ (Labeyrie 1962).

Afin de bien connaître les différents stades de développement de la bruche du haricot et la durée totale de son cycle biologique, nous nous proposons dans ce chapitre, de suivre son cycle du stade œuf jusqu'à l'adulte.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Les bruches

L'espèce étudiée est *A. obtectus*, obtenue à partir d'une souche provenant du Laboratoire d'Entomologie de l'université de Tlemcen. Elle est entretenue par des élevages de masse au niveau du laboratoire d'Entomologie du Département de Biologie de l'Université de Tizi-Ouzou.

2.1.2. Les graines de haricots

Les graines saines de haricots, cultivar Rognon blanc, sont utilisées pour l'élevage de masse et proviennent du marché local (Tizi-Ouzou). Les graines ne sont pas traitées par aucun

insecticide ni autres composés chimiques. Elles sont lavées et séchées et conservées à 4°C avant utilisation.

2.2. Méthodes

2.2.1. Elevage de masse

Il consiste à mettre en contact les bruches adultes mâles et femelles avec des graines de haricot dans des bocaux en verre (18 cm de hauteur sur 11 cm de diamètre). Ces derniers sont placés dans une étuve réglée aux conditions favorables à leur développement 30±1°C de température et 70±10% d'hygrométrie. Cet élevage permet de fournir un nombre suffisant de bruches adultes destinées aux différents essais biologiques.

2.2.2. Etude du cycle de développement de la bruche

Pour l'étude du cycle biologique d'*A. obtectus*, nous avons infesté des graines de haricot saines par des œufs de même âge (0 à 24 heures) ; 50 œufs fraîchement récoltés sont placés dans des boîtes de Pétri en verre en présence de graines de haricot saines. Quatre répétitions sont effectuées et les boîtes sont placées à l'intérieur d'une étuve réglée aux conditions de 30±1°C de température et 70±5% d'hygrométrie.

Grace à des observations régulières, à l'aide d'une loupe binoculaire, nous pouvons déterminer la durée d'incubation des œufs et le stade néonate (larve mobile).

Le développement larvaire et nymphal se déroule entièrement à l'intérieur de la graine. Pour pouvoir observer ces stades cachés de la bruche du haricot, depuis la pénétration de la larve néonate à l'intérieur de la graine jusqu'à la fin de la nymphose, nous avons eu recours à des dissections des graines contaminées (méthodologie inspirée de Kellouche, 2005). Cependant, les stades observés par cette méthode ne peuvent poursuivre leur développement sauf pour les stades les plus avancés (larve du 4^{ème} stade ou nymphe).

3. Résultats

Le suivi du cycle de développement de la bruche nous a permis de distinguer quatre stades de développement à savoir l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago.

Les œufs blancs et lisses sont pondus par les femelles soit directement sur les graines de haricot ou bien sur les parois des boîtes de Pétri contenant des graines de haricot. A la fin du développement embryonnaire, la larve néonate (L₁) est visible par transparence à travers le chorion de l'œuf observé à l'aide d'une loupe binoculaire.

L'incubation dure 6 jours environ et au moment de l'éclosion la larve néonate déchire le chorion de l'œuf pour sortir (Fig. 5a). C'est une larve mobile pourvue de pattes fines qui circule et se déplace à la recherche d'une graine adéquate pour s'y installer et se distingue visiblement des autres stades larvaires par sa forme et sa taille. Nous avons remarqué que la pénétration de cette larve à l'intérieur de la graine demande plus de 24 heures.

Nous avons également observé que beaucoup de larves profitent des trous forés par leurs congénères (Fig. 5b), mais leurs galeries vont rapidement diverger à l'intérieur de la graine (Fig. 6).

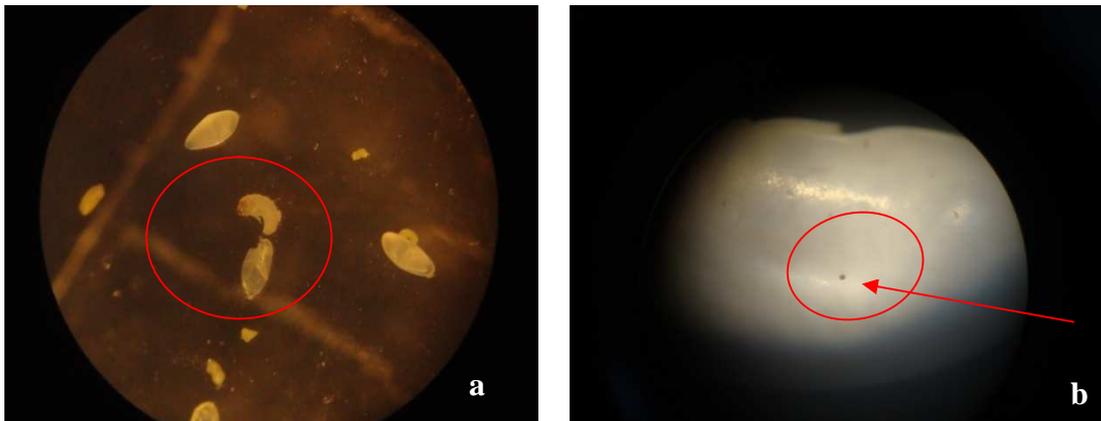


Figure 5. Sortie de la larve L_1 de l'œuf (a) et trou de pénétration de la larve L_1 d'*Acanthoscelides obtectus* dans la graine du haricot (b) (G : $\times 10$) (Originale, 2014).

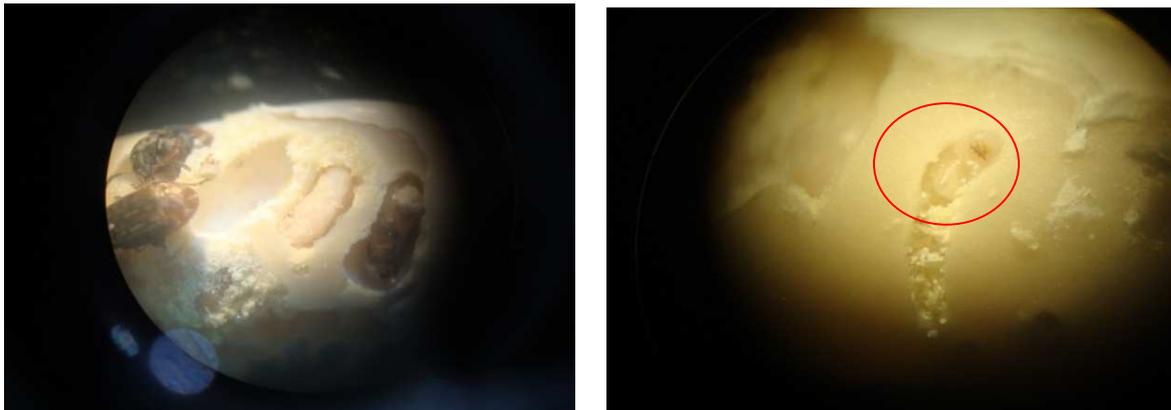


Figure 6. Galeries creusées à l'intérieur des graines par les larves d'*Acanthoscelides obtectus* (G : $\times 10$) (Originale, 2014).

Une fois que la larve L₁ est à l'intérieur de la graine, 2 jours plus tard environ, elle mue pour la première fois et se transforme en une larve morphologiquement très différente, très arquée et apode de type L₂ (3 à 4 jours).

Les larves du troisième stade L₃ et du quatrième stade L₄ sont semblables à celle du deuxième stade L₂ mais de taille plus importante ; la durée de développement des stades L₃ et L₄ est de 4 et 6 jours respectivement.

La nymphe est morphologiquement très différente des larves, elle est blanchâtre au départ puis se pigmente et se sclérotinise peu à peu pour se rapprocher de la morphologie de l'adulte. La nymphose dure 7 à 9 jours et aboutit à des imagos qui sortent par des opercules préparés par les larves.

Les résultats obtenus pour la durée de chaque stade du cycle de développement d'*A. obtectus* sont groupés dans le tableau 3 et illustrés par la figure 6.

La durée du cycle de développement, de l'œuf à l'adulte, est en moyenne de 30±2 jours dans les graines de haricot de la variété Rognon blanc. L'incubation des œufs dure environ 6 jours, le développement larvaire prédomine le cycle avec un total de 18 jours (quatre stades larvaires ont été identifiés) et la nymphose s'est étalée sur 7 jours environ.

Tableau 3. Durée des différentes phases du cycle de vie d'*A. obtectus* dans les graines du haricot (m±s).

Stades larvaires	Durée (jours)
Incubation	5±1
Larve du premier stade L₁	3±1
Larve du deuxième stade L₂	3±1
Larve du troisième stade L₃	4±1
Larve du quatrième stade L₄	6±1
Nymphose	8±1
Durée totale (jours)	30±2

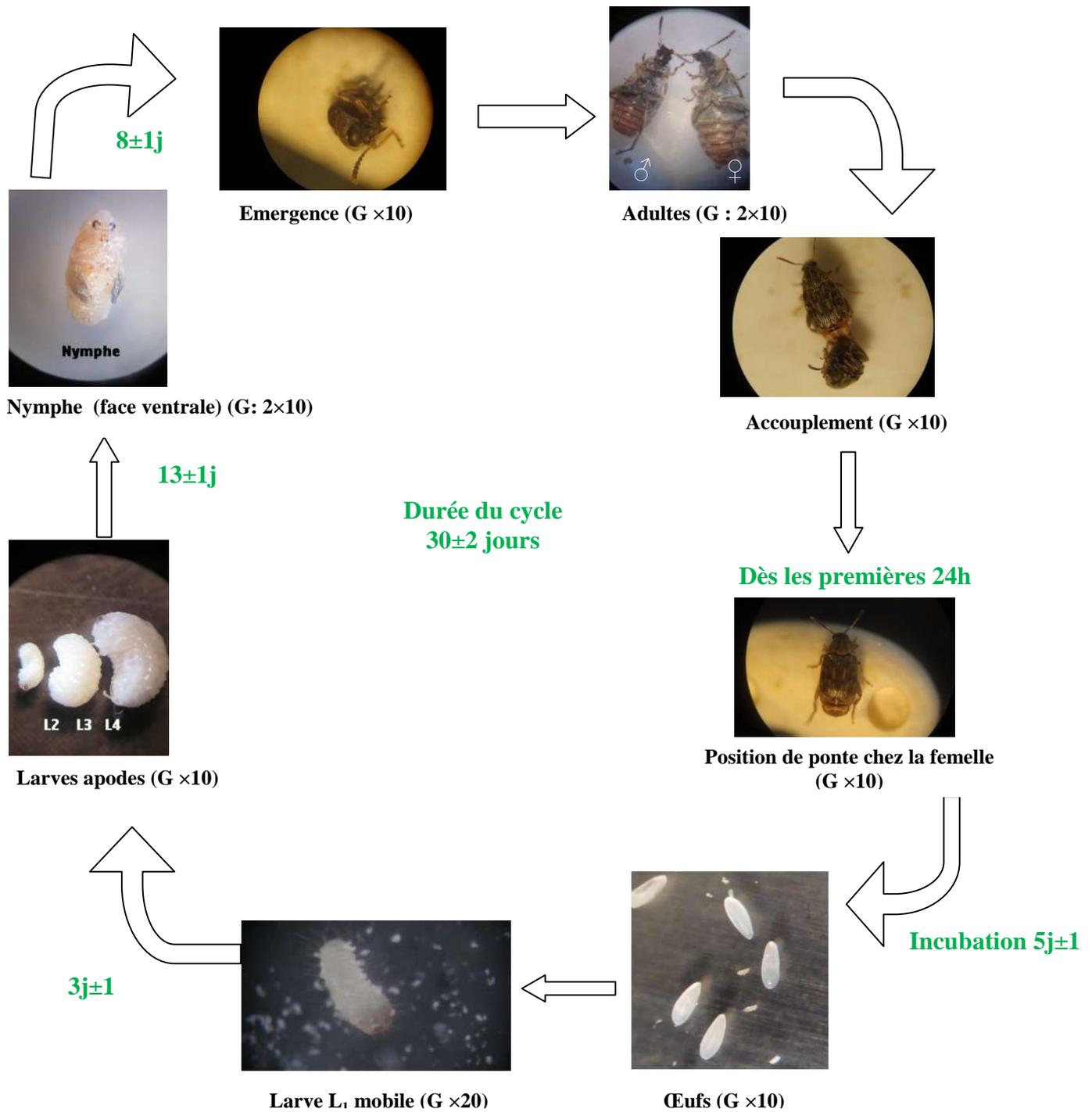


Figure 7. Cycle de vie d'*Acanthoscelides obtectus* sur les graines de haricot commun à 30±1°C de température et 70±5% d'hygrométrie (Originale, 2012).

4. Discussion

Les résultats que nous avons obtenus pour le suivi du cycle de développement d'*A. obtectus* sont similaires à ceux obtenus par beaucoup d'auteurs ayant travaillé dans des conditions de température et d'humidité identiques aux nôtres. Des travaux sur les Bruchidae ont montré la présence de quatre stades larvaires pour des bruches polyvoltines c'est le cas de la bruche du haricot *A. obtectus* (Khelil, 1977), la bruche du niébé *C. maculatus* (Kellouche, 2005), la bruche du pois chiche *C. chinensis* (Righi-Assia, 2010) et la bruche de la fève (monovoltine) *B. rufimanus* (Medjdoub-Bensaad, 2007 ; Medjdoub-Bensaad et al., 2007).

Nos résultats montrent que la durée du cycle de développement de la bruche du haricot sur des graines de la variété blanche (Rognon blanc) est de 30 ± 2 jours. En effet Khelil (1977) a noté que la durée du cycle de développement d'*A. obtectus* est de 28 à 30 jours, l'incubation dure 6 jours, les stades larvaires L_1 et L_4 durent environ 4 jours ; les stades larvaires L_2 et L_3 s'étalent chacun sur 2 jours, la prénymphe et la nymphe durent environ 3 jours et 7 à 9 jours respectivement.

De même, Kassemi (2006) a constaté que la durée du cycle biologique d'*A. obtectus* est de 29 à 31 jours, l'incubation est de 6 jours, la durée de stade L_1 est de 3 à 4 jours et la durée entre le stade L_2 et l'émergence est de 20 à 22 jours.

Bouchikhi Tani (2006 et 2011) signale que le cycle de développement d'*A. obtectus* sur la variété blanche (rognon blanc) est de 30 jours et que la durée entre L_1 et L_2 est de 2 jours et entre L_2 et l'émergence est de 23 jours. Les stades cachés (larves et nymphes) sont prédominants par leurs durées ($23 \pm 1,39$ jours). Il ajoute que la durée du cycle est de 31 jours sur la variété noire.

Pour sa part Hamdani (2012) a rapporté une durée totale du cycle de 30 ± 2 jours avec un total de 22 jours pour les stades cachés.

Les travaux de Kellouche (2005) ont rapporté des variations de la durée du cycle de développement de la bruche du niébé (*C. maculatus*) en fonction des cultivars de *C. arietinum* et de *V. unguiculata* de $26 \pm 2,1$ à $32 \pm 2,7$ jours avec des durées plus courtes pour les variétés de *V. unguiculata*, l'hôte préféré de ce ravageur.

Nous avons remarqué que les femelles pondent le plus grand nombre d'œufs lors de leurs premiers jours d'existence, elle est presque nulle après le 7^{ème} jour. L'évolution dans le temps des pontes chez *A. obtectus* est rapportée par des études antérieures avec des résultats

différents. Pankanin-Franczyk (1980) cité par Parson et Credland (2003) a noté des pics des taux de fécondité 3 à 4 jours après l'émergence ; par contre Huignard et Biéumont (1979) ont enregistré le pic 24 heures après l'accouplement. Pour leur part, Parson et Credland (2003) ont enregistré des pics d'oviposition au deuxième jour après accouplement. Ces différences sont probablement dues aux variations interpopulations des populations d'*A. obtectus* comme est le cas chez *C. maculatus* (Credland, 1990).

Kellouche (2005) a constaté des résultats similaires sur *C. maculatus* où la majorité des œufs sont pondus durant les trois premiers jours de la vie des bruches. Selon Khalfi (1983) cité par Righi-Assia (2010), cette diminution est due aux effets de vieillissement des mâles de *C. chinensis* qui ont une activité reproductrice réduite jusqu'à ne plus s'accoupler avec les femelles après le 7^{ème} et le 8^{ème} jour.

Beaucoup de larves L₁, mobiles, profitent des trous d'entrée forés par leurs congénères pour s'introduire dans les graines. Les travaux d'Ohtsuka et Toquenaga (2009) ont montré qu'en effet, les larves d'*A. obtectus* montrent deux catégories de comportement d'entrée dans les graines de haricot ; les premières sont les larves pionnières qui forent elles mêmes le tégument des graines mais elles subissent des mortalités élevées, les secondes sont des larves 'suivistes' ou '*followers*' qui s'introduisent par les trous d'entrée déjà fabriqués par les pionnières mais dont les galeries vont vite diverger à l'intérieur de la graine. Ces auteurs ont montré que le succès d'entrée des pionnières est plus faible que celui des '*followers*' et que leurs proportions diminuent au fur et à mesure que le nombre de larves en compétition augmente.

1. Introduction

L'utilisation de plantes ou extraits de plantes (racines, feuilles, écorces et fruits) dans la protection des récoltes contre les insectes ravageurs au cours de stockage est une pratique ancienne très répandue en Afrique et en Asie (Kaloma et *al.*, 2008).

Selon les mêmes auteurs, les branches et les feuilles fraîches de plantes aromatiques sont utilisées pour protéger les grains stockés de maïs (*Z. mays* L.) et les grains de haricot (*P. vulgaris* L.) et de niébé (*V. unguiculata* (L.) Walp.) contre les attaques de divers insectes de stocks dans les récipients traditionnels de conservation. Même après une longue période de stockage, les feuilles sèches de ces plantes continuent d'émettre de fortes odeurs aromatiques persistantes liées à leur composition en huiles essentielles pouvant être à l'origine de leur bio-activité.

Des poudres obtenues par broyage des différents organes (des fleurs, des semences, des écorces, des racines et des feuilles) des plantes séchées à l'ombre et à une température ambiante de 26° à 28°C ont été testées contre plusieurs ravageurs des denrées stockées (Gwinner et *al.*, 1996). Des travaux de Quarles (1992) rapportés par Taponjou et *al.* (2003) ont montré que les poudres de *Chenopodium ambrosioides* ont un large spectre d'action contre les insectes mais aussi les nématodes, les champignons et les virus. L'effet toxique et répulsif des poudres de *C. ambrosioides* et d'*Eucalyptus saligna* contre la bruche du niébé (*C. maculatus*) a été noté par les travaux de Taponjou et *al.* (2003).

Les travaux de Ghandi et *al.* (2010), sur la bioefficacité des poudres des feuilles d'une Lythraceae (*Punica granatum*) et d'une Rutaceae (*Murraya koenigii*) contre un ravageur des denrées stockées, *Tribolium castaneum* (Herbst), ont révélé une forte mortalité des adultes et un retard dans le développement de l'insecte de même qu'une réduction significative de la population. Ces poudres contiennent des composés chimiques complexes qui pourraient montrer une bioactivité supérieure comparés aux constituants des plantes isolés par les méthodes d'extraction (Baki et *al.*, 2005 ; Berenbaum, 1985 in Ghandi et *al.*, 2010). Selon ces derniers auteurs, pourvu que le matériel végétal soit disponible, cette méthode de lutte est très facile et accessible et pas coûteuse à tout agriculteur qui voudrait protéger ses récoltes en utilisant des pulvérisations de plantes notamment dans les pays en voie de développement.

Les travaux de Kellouche (2005) réalisés sur la bruche du niébé (*C. maculatus*) ont montré que les poudres des plantes aromatiques appartenant aux familles des Myrtacées, Moracées, Oleacées et Rutacées réduisent significativement la longévité des adultes et/ou la

fécondité des femelles. Par ailleurs, Righi-Assia et *al.* (2010), en testant les poudres des feuilles et des fleurs de quelques plantes spontanées (Thym, Santoline et Anagyre fétide) ainsi que celles du pois chiche, a observé une réduction de la longévité, de la fécondité, de la fertilité, ainsi que du poids et de la longueur des adultes de la bruche du pois chiche (bruche chinoise) *C. chinensis* notamment pour les poudres des feuilles qui ont montré un effet bioinsecticide même à des doses très faibles. Bouchikhi Tani (2011) a, pour sa part, étudié et comparé l'effet biocide des poudres de dix plantes aromatiques dont des Lamiacées, Rutacées, Cistacées et Astéracées sur les adultes de la bruche du haricot et de la mite (*Tineola bisselliella*). Il a montré qu'elles présentent des propriétés insecticides sur *A. obtectus* et insecticides et larvicides sur *T. bisselliella*, de même qu'elles réduisent la fécondité des femelles des deux espèces.

Dans ce chapitre, nous allons étudier l'effet des poudres des feuilles de dix plantes dont six sont aromatiques ; ce sont le basilic commun (*Ocimum basilicum*), la menthe verte (*Mentha spicata*), la sauge (*Salvia officinalis*) et le thym (*Thymus vulgaris*) (Lamiacées), l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) (Myrtacées) et le laurier noble (*Laurus nobilis*) (Lauracées). Nous avons voulu également voir quel serait l'effet des poudres des feuilles de quelques légumineuses cultivées sur la biologie de la bruche du haricot, il s'agit de la fève et du petit pois (Légumineuses herbacées) et du genêt et du robinier (Légumineuses arbustive et arborescente). L'évaluation de la toxicité de ces poudres sur *A. obtectus* est faite à travers quatre paramètres : la longévité des adultes, la fécondité et la fertilité des femelles et la viabilité des œufs. L'effet éventuel de l'utilisation de ces poudres comme moyen de protection des récoltes sur les caractéristiques des graines est également étudié à travers deux paramètres : la perte en poids et la faculté germinative des graines de *P. vulgaris*.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Les bruches

L'espèce étudiée est *A. obtectus*, elle est obtenue à partir d'une souche provenant du laboratoire d'Entomologie de l'université de Tlemcen en 2008. Elle est entretenue grâce à des élevages de masse (Cf. Chapitre III, p.20).

2.1.2. Les graines de haricots

Les graines saines de haricots, cultivar Rognon blanc, utilisées pour l'élevage de masse et les différents bio-essais proviennent du marché local (Tizi-Ouzou). Les graines ne sont pas

traitées par aucun insecticides ni autres composés chimiques. Elles sont lavées et séchées et conservées à 4°C avant utilisation.

2.1.3. Les poudres végétales

2.1.3.1. La poudre des feuilles de fève

La fève (*V. faba* L.), de la famille des Fabacées, est une espèce à tiges quadrangulaires, creuses, droites, peu ramifiées. Les feuilles, de couleur vert glauque, sont composées et alternes et les fleurs sont blanches, forment une inflorescence en grappe de 4 à 5 fleurs. Les fruits sont des gousses, noircissant à maturité et renfermant 3 à 8 graines (Chaux et Foury, 1994).

La poudre utilisée est obtenue à partir de feuilles issues de pieds de fèves cultivés dans la région de Tizi-Ouzou. La récolte des plantes a été faite durant le mois de mars 2013 à Tizi-Ouzou.

2.1.3.2. La poudre des feuilles du petit pois

Le petit pois (*Pisum sativum* L.), de la famille des Fabacées, est une plante annuelle, herbacée et grimpante. Les feuilles sont largement stipulées, composées de couleur vert jaune à vert foncé ; les fleurs sont blanches ou violacées (Péron, 2004).

La récolte des feuilles de pois est faite durant le mois de mars 2013 au niveau d'une parcelle agricole non traitée située dans la commune de Tizi-Ouzou.

2.1.3.3. La poudre des feuilles de genêt

Genista tricuspidata L. est une plante arbustive de la famille des Fabacées, à fleurs jaunes, elle possède des rameaux verts parfois épineux, qui portent des petites fleurs caduques, (floraison en mai-juin) (Chaux et Foury, 1994).

Les feuilles de Genêt ont été récoltées en juin 2012, dans la région d'Ait-yenni (40 Km au Sud-Est de la wilaya de Tizi-Ouzou).

2.1.3.4. La poudre des feuilles de robinier

Robinia pseudoacacia L. (Fabacées), appelé aussi faux -acacia ou acacia est une légumineuse arborescente qui peut atteindre 20 à 30 m de haut. Les feuilles caduques sont imparipennées, avec un grand nombre de folioles ovales (9 à 19 folioles) ; les stipules des

feuilles portées par les rameaux non florifères sont transformées en épines. Les fleurs zygomorphes sont blanches et les fruits sont des gousses aplaties (Roussillat, 1999).

Les feuilles de Robinier ont été récoltées en juin 2012 dans la ville de Tizi-Ouzou.

2.1.3.5. La poudre des feuilles de basilic

Selon Guignard et Dupont (2004), *Ocimum basilicum* L. (Lamiacées) est une plante très aromatique originaire de Sud de l'Asie et de l'Indonésie. Ses feuilles sont ovales, vertes avec de petites fleurs de couleur blanche à rose pâle rassemblées en grappes. C'est une herbacée annuelle sous les climats tempérés mais vivace en climat tropical. Le genre *Ocimum* est composé de plusieurs espèces parmi lesquelles, le basilic citron (*O. canum* L.), le basilic sacré (*O. sanctum* L.) et le basilic commun (*O. basilicum* L.).

Les plantes de basilic utilisées proviennent d'une exploitation agricole privée située dans la région de Tizi-Ouzou. Les feuilles ont été récoltées à la fin du mois Mai 2012.

2.1.3.6. La poudre des feuilles de menthe verte

Mentha spicata L. (Lamiacées) est une plante herbacée très courante dans les jardins, elle peut atteindre 60 cm de hauteur. Elle est pourvue de stolons qui assurent sa multiplication, ce qui peut la rendre envahissante. Le feuillage est habituellement vert profond mais les jeunes feuilles sont généralement plus claires. Les feuilles sont lancéolées à bords en dents de scie; elles portent des glandes sécrétant une essence, le menthol, dans une bonne proportion. Les fleurs sont généralement rosées voire blanches, se réunissent en épi et apparaissent en été (Fernandez, 2003).

Les feuilles de menthe verte sont récoltées en septembre 2012 dans la région de Maatkas (20 Km au Sud Ouest de Tizi-Ouzou).

2.1.3.7. La poudre des feuilles de la sauge commune

La sauge commune, *Salvia officinalis* L., est une herbe aromatique appartenant à la famille des Lamiacées. C'est un sous-arbrisseau originaire du bassin méditerranéen, mesurant 50 cm de hauteur et appréciant les sols bien drainés et ensoleillés (Aubineau et al., 2002).

Elle présente des rameaux quadrangulaires. Ses feuilles sont oblongues, duveteuses et rugueuses, de couleur vert-blanc. Ses fleurs sont de couleur bleu-violet regroupées verticalement le long de la tige. Son odeur est balsamique et son arôme est camphré et amer.

Les feuilles de la sauge sont récoltées en septembre 2012 dans la région de Maâtkas (20 Km au Sud Ouest de Tizi-Ouzou).

2.1.3.8. La poudre des feuilles de thym commun

Le thym commun (*Thymus vulgaris* L.) est un sous-arbrisseau vivace touffu de la famille des Lamiacées. C'est une espèce originaire des pays du bassin méditerranéen, commune des garrigues ensoleillées, des steppes du sud de l'Europe et du Nord de l'Afrique.

C'est une plante très aromatique de 7 à 30 cm de hauteur à tiges cylindriques ligneuses. Ses feuilles sont très petites, ovales, lancéolées, à bord roulés en dessous ; les pétioles sont extrêmement courts et blanchâtres à leur face inférieure. Les fleurs sont roses à blanches, de 4 à 6 mm de longueur, pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures (Fernandez, 2003).

Les feuilles de thym ont été récoltées au niveau de Chréa en mars 2013 (18 Km au Sud-Est de Blida).

2.1.3.9. La poudre des feuilles d'eucalyptus

Eucalyptus globulus L., de la famille des Myrtacées, est une espèce originaire d'Australie, commune en Algérie. C'est un arbre à tronc droit, à écorce lisse gris cendré et à bois rouge. Les feuilles, en forme de faucilles, sont ovales, cireuses, vert clair, opposées et sessiles sur les sujets jeunes et coriaces, pendantes, alternes et pétiolées sur des sujets âgés. Les fleurs sont blanchâtres et les fruits, en forme de capsules, sont durs, anguleux et verruqueux à quatre loges renfermant chacune plusieurs graines. Cette espèce est caractérisée par une odeur balsamique (Baba Aissa, 2011).

Les feuilles sont récoltées au niveau de la région d'Azzefoun (à 55 km au Nord-Est de Tizi-Ouzou) au mois d'Octobre 2012.

2.1.3.10. La poudre des feuilles de laurier noble

Originaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* L. (Lauracées) est un arbre aromatique à rameaux dressés et à écorce lisse. Les feuilles sont persistantes, alternes, coriaces, luisantes, ovales lancéolées à bords ondulés et courtement pétiolées. Les fleurs sont dioïques, blanc jaunâtre groupées par 4 à 6 ombelles axillaires ; les fruits sont de petites drupes, noires à maturité (Baba Aissa, 2011). Cette plante pousse dans les lieux humides et

ombragés, mais également dans les jardins, où il est cultivé comme condiment. Les feuilles sont récoltées toute l'année (Guignard et Dupont, 2004).

Les feuilles de laurier noble proviennent de la région de Draa El Mizan (47 km au sud de Tizi-Ouzou). Elles sont récoltées au mois d'Octobre 2012.

2.2. Méthodes

2.2.1. Récolte et préparation des poudres végétales

Après récolte, les feuilles sont nettoyées et séchées séparément au laboratoire à la température ambiante de 25° à 27°C pendant 4 à 5 jours.

Une fois séchées, elles sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique puis le broyat est passé dans un tamis (0,5 mm de maille) afin d'obtenir une poudre de granulométrie homogène.

Les poudres sont conservées séparément dans des flacons au frais à l'abri de la lumière et de l'air.

2.2.2 Evaluation de l'efficacité des poudres des feuilles sur *A. obtectus*

Cinq couples de bruches âgés de 0 à 24 heures sont mis dans des boîtes de Pétri en verre, contenant 25g de graines de haricots (*P. vulgaris*, cultivar Rognon blanc). Celles-ci sont traitées avec différentes doses de poudres des feuilles de quatre Lamiacées (basilic, menthe verte, sauge et thym), quatre Légumineuses (fève, petit pois, robinier et genêt), une Myrtacée (Eucalyptus) et une Lauracée (Laurier noble).

Les doses utilisées sont 0,25, 0,5, 0,75, 1 et 1,25g par 25 g de graines de haricot soit 1%, 2%, 3%, 4% et 5% du poids des graines. Des lots témoins (0%) sont réalisés en parallèle avec des graines non traitées. Quatre répétitions sont effectuées pour toutes les doses et pour le témoin (Fig.8).

Les boîtes sont maintenues dans les mêmes conditions de température et d'humidité relative précédemment citées.



25g + 5 couples (Témoin)



25g + 5 couples + x dose de poudre

Figure 8. Test par contact des poudres des plantes à différentes doses (x dose= 0,25, 0,5, 0,75, 1 et 1,25g par 25 g soit 1%, 2%, 3%, 4% et 5%) contre *A. obtectus* (Originale, 2014).

2.2.2.1. Paramètres biologiques étudiés

L'efficacité des différents traitements sur *A. obtectus*, est évaluée par l'étude de la longévité des adultes, la fécondité et la fertilité des femelles et la viabilité des œufs ainsi que la perte en poids et la faculté germinative des graines traitées par les poudres.

a. Paramètres liés à la bruche

- **La longévité des adultes**

Elle est déterminée en dénombrant, quotidiennement, les individus morts après le lancement des tests pour toutes les doses et ce jusqu'à la mort de tous les individus.

- **La fécondité des femelles**

Tous les œufs pondus sur les graines et sur les boîtes (éclos et non éclos), sont dénombrés à l'aide d'une loupe binoculaire, après 13 jours de traitement.

- **Le taux d'éclosion des œufs**

Après comptage des œufs pondus, le taux d'éclosion des œufs est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'éclosion} = (\text{nombre d'œufs éclos} / \text{nombre d'œufs pondus}) \times 100$$

- **Le taux de viabilité des œufs (émergence)**

Les adultes qui commencent à émerger à partir du 30^{ème} jour jusqu'à 40^{ème} jour sont comptés régulièrement et sont retirés des boîtes au fur et à mesure qu'ils sortent des graines.

Le taux de viabilité des œufs est calculé par la formule :

$$\text{Taux de viabilité} = (\text{nombre d'adultes émergés} / \text{nombre d'œufs pondus}) \times 100$$

- b. Paramètres liés à la graine**

- **Les pertes en poids**

Dès la fin des émergences des adultes de la première génération, la perte en poids des graines ayant subi les différents traitements est évaluée en procédant à la pesée des lots de graines à l'aide d'une balance. Ce poids est ensuite comparé au poids initial avant traitement. Les pertes en poids sont exprimées en pourcentage calculé comme suit :

$$\text{La perte en poids \%} = \{(\text{poids initial}) - (\text{poids final}) / \text{le poids initial}\} \times 100.$$

- **La faculté germinative des graines**

Afin d'évaluer l'effet des traitements par les poudres sur le pouvoir germinatif des graines, nous prélevons de chaque lot testé 25 graines prises au hasard que nous mettons dans des boîtes de Pétri contenant du coton imbibé d'eau. Un lot témoin représenté par des graines non traitées (saines) et des graines infestées par les bruches (le test témoin de traitement par contact) sont également réalisés (Fig. 9).

Après 4 jours d'expérimentation, nous procédons au dénombrement des graines germées et nous calculons le taux de germination par la formule :

$$\text{Taux de germination} = (\text{nombre de gaines germées} / \text{nombre total de graines}) \times 100$$



25 graines infestées



25 graines traitées par les poudres

Figure 9. Test de germination des graines de haricot traitées par contact aux poudres végétales contre *Acanthoscelides obtectus* (Originale, 2012).

2.3. Analyse statistique

Les séries de données concernant les effets biocides des poudres végétales sur les paramètres biologiques de la bruche et sur les paramètres agronomiques de la graine de haricots sont comparés en utilisant le test de Fisher-Snedecor (Anova) au seuil $p=5\%$ à un facteur puis à deux facteurs de classification (pour comparer les poudres entre elles) en utilisant le logiciel, Stat Box, version 6.3. Dans le cas où les différences s'avèrent significatives, un test complémentaire de Newman et Keuls au seuil de 5% est effectué afin de déterminer les groupes homogènes.

3. Résultats

3.1. Effet biocide des poudres végétales sur la biologie de l'insecte

3.1.1. Effet des poudres sur la longévité des adultes

Les résultats présentés dans la figure 10 montrent que la longévité des adultes de la bruche du haricot diminuent au fur et à mesure que les doses augmentent et ce pour toutes les poudres végétales.

La longévité moyenne dans le lot témoin (non traité) est de $12,5 \pm 0,57$ jours ; elle diminue progressivement et montre, à la plus forte dose (5%), des valeurs très proches pour toutes les poudres utilisées dont la plus faible est enregistrée pour la poudre de robinier $4,25 \pm 0,5$ jours et la plus forte pour la poudre de thym $5,75 \pm 0,95$ jours.

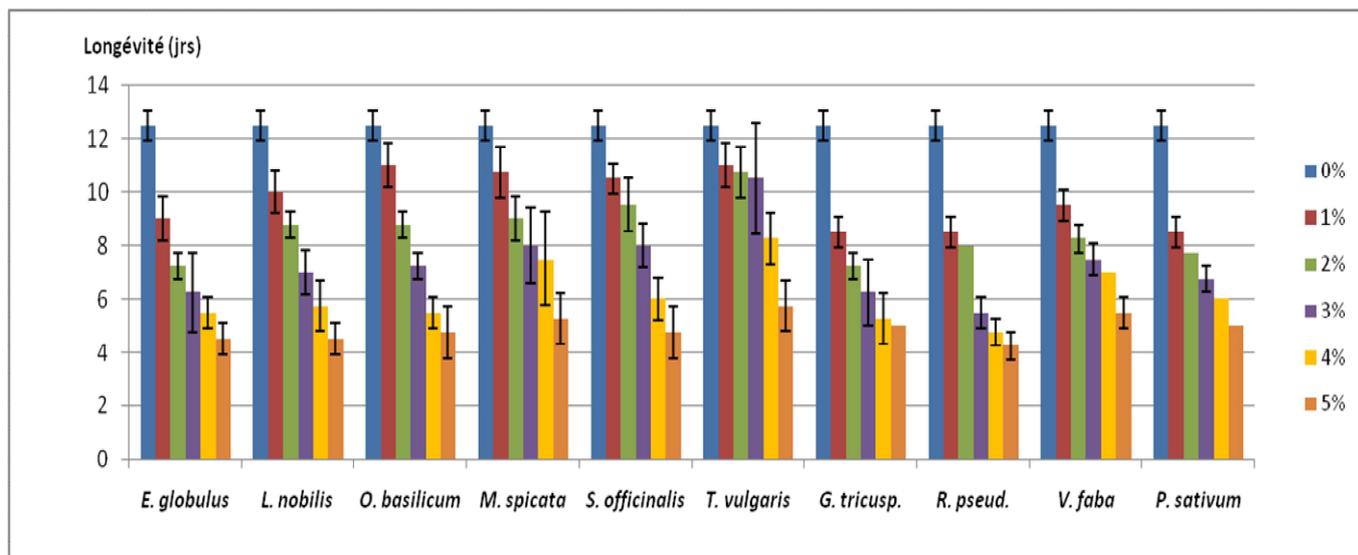


Figure 10. Longévité moyenne (\pm écart-type) des adultes d'*Acanthoscelides obtectus* traités par contact avec différentes doses des poudres végétales.

L'analyse de la variance à un facteur de classification révèle des différences très hautement significatives ($P=0$) pour le facteur dose pour chaque poudre (Tab. 4).

Tableau 4. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

	Basilic	Eucalyptus	Laurier	Genêt	Robinier	Fève	Pois	Menthe	Sauge	Thym
P	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
0%	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a	12,5a
1%	11b	9b	10b	8,5b	8,5b	9,5b	8,5b	10,75b	10,5b	11a
2%	8,75c	7,25c	8,75c	7,25c	8b	8,25c	6,75c	9c	9,5b	10,75a
3%	7,25d	6,25cd	7d	6,25cd	5,5c	7,5cd	6d	8c	8c	10,5a
4%	5,5e	5,5de	5,75e	5,25d	4,75d	7d	5e	7,5c	6d	8,25b
5%	4,75e	4,5e	4,5f	5d	4,25d	5,5e	0,5f	5,25d	4,75e	5,75c

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

3.1.2. Effet des poudres sur la fécondité des femelles

D'après nos résultats, les poudres végétales diminuent le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles à des degrés différents selon les espèces végétales (Fig.11).

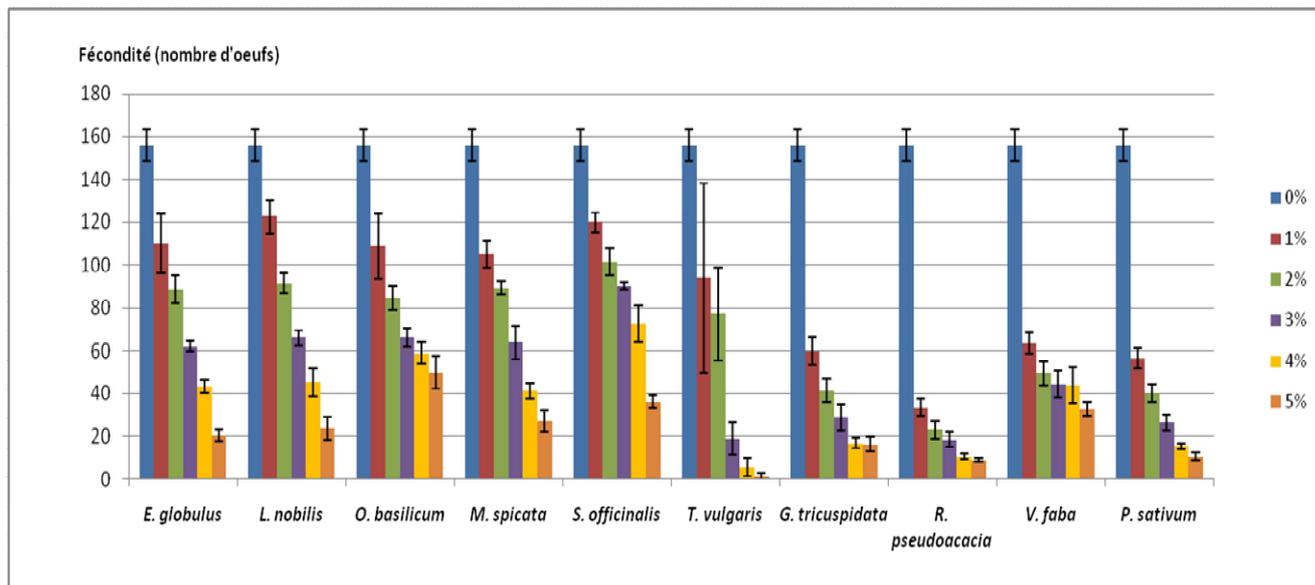


Figure 11. Fécondité moyenne (\pm écart-type) des femelles d'*Acanthoscelides obtectus* après traitement par contact avec différentes doses des poudres végétales.

La fécondité moyenne dans les lots témoins est de $155,75 \pm 7,41$ œufs/5femelles ; une diminution de la fécondité est notée dès la plus faible dose (1%) montrant la valeur maximale pour la poudre de laurier ($122,5 \pm 7,72$ œufs/5femelles) et la minimale pour le robinier ($33,5 \pm 4,20$ œufs/5femelles). Les poudres des feuilles de Légumineuses semblent avoir un effet rapide dès cette dose alors qu'il est progressif pour les poudres de Lamiacées, lauracées et Myrtacées.

A la plus forte dose (5%), c'est la poudre de thym qui réduit fortement la fécondité des femelles d'*A. obtectus* à $1,29 \pm 1,89$ œufs/5femelles suivie de la poudre du robinier ($9 \pm 0,81$ œufs/5femelles), du petit pois ($10,5 \pm 1,91$ œufs/5femelles) et du genêt ($16,5 \pm 3,41$ œufs/5femelles). L'effet biocide des poudres est beaucoup plus visible sur la fécondité des femelles que sur la longévité des adultes.

L'analyse statistique (Anova 1) a montré des différences très hautement significatives ($P=0$) pour le facteur dose pour chacune des poudres végétales testées (Tab. 5).

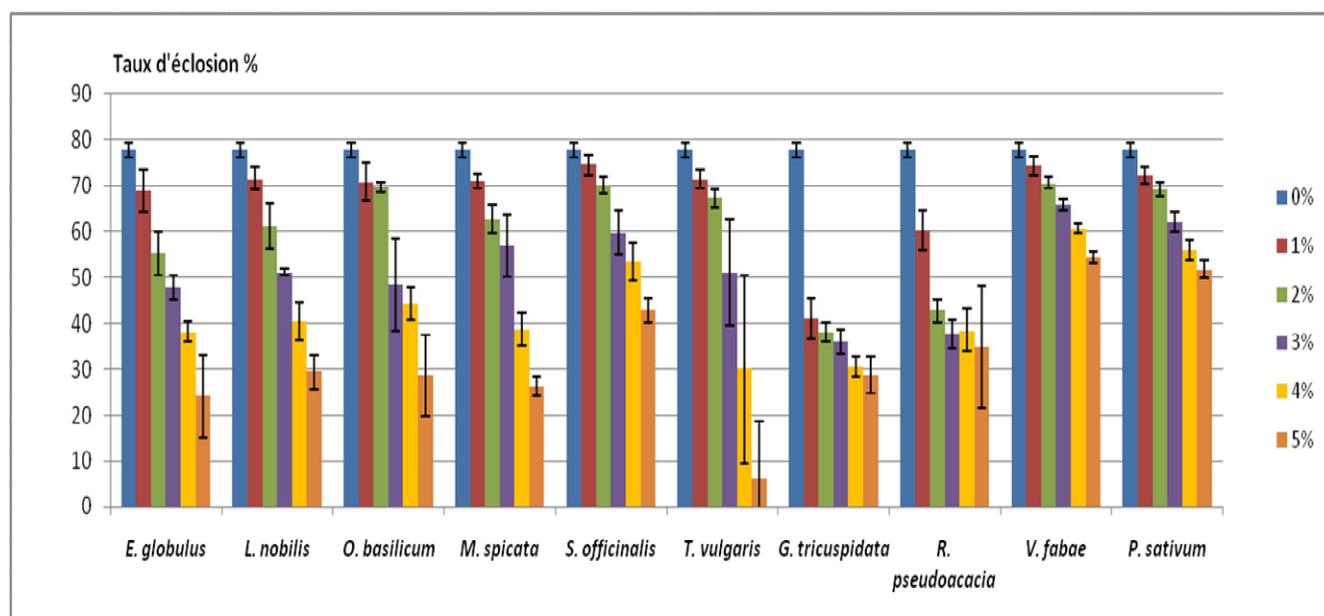
Tableau 5. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur la fécondité des adultes d'*A. obtectus*.

	Basilic	Eucalyptus	Laurier	Genêt	Robinier	Fève	Pois	Menthe	Sauge	Thym
P	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
0%	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a	155,7a
1%	108,75b	109,75b	122,5b	59,75b	33,5b	63,5b	56,75b	105,25b	119,75b	94b
2%	84,75c	88,75c	91,5c	41,5c	23c	49,5c	40,25c	89,25c	101,5c	77,25b
3%	66,25d	62,25d	66d	28,75d	18,5c	44,5c	26,5d	64d	90d	18,75c
4%	59de	43,25e	45,25e	17e	10,5d	44c	15,5e	41,25e	72,75e	5,5c
5%	50 ^e	20,5f	23,75f	16,5e	9d	32,75d	10,5e	27f	36f	1,25c

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

3.1.3. Effet des poudres sur la fertilité des œufs d'*A. obtectus*

Les résultats présentés dans la figure 12 montrent que le taux moyen d'œufs éclos diminue lorsque les doses de différentes poudres végétales augmentent.

**Figure 12.** Taux moyen d'éclosion (\pm écart-type) des œufs d'*Acanthoscelides obtectus* après traitement par contact avec différentes doses des poudres végétales.

L'éclosion d'œufs est en moyenne de $77,73 \pm 1,57\%$ dans les lots témoins ; une diminution marquée est notée pour la poudre de genêt dès la dose de 1% ($40,93 \pm 4,45\%$). A la plus forte dose (5%), les poudres de thym, d'eucalyptus, de menthe et de basilic montrent des taux d'éclosion de $6,25 \pm 12,5$; $24,17 \pm 8,94$; $26,15 \pm 2,06$ et $28,64 \pm 8,8$ %. A travers ce paramètre, il ressort que les poudres de Lamiacées (thym, menthe et basilic) et de myrtacées (eucalyptus) inhibent de manière très marquée l'éclosion des œufs d'*A. obtectus* en comparaison avec les poudres de légumineuses notamment pour le pois et la fève.

L'analyse de la variance à un critère de classification montre des différences très hautement significatives ($P=0$) pour le facteur dose pour chacune des poudres testées (Tab. 6).

Tableau 6. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur la fertilité des femelles d'*A. obtectus*.

	Basilic	Eucalyptus	Laurier	Genêt	Robinier	Fève	Pois	Menthe	Sauge	Thym
P	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
0%	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a	77,73a
1%	70,74a	68,76b	71,405b	40,93b	60,25b	74,30b	72,25b	71b	74,55ab	71,43a
2%	69,57a	55,21c	61,06c	38,06b	42,75c	70,62c	69,12c	62,64c	70,1b	67,14ab
3%	48,42b	47,83d	51,08d	36,08b	38,42c	65,81c	62,09d	56,82d	59,70c	50,95b
4%	44,27b	38,18e	40,38e	30,5c	37,75c	60,57d	55,84e	38,58e	53,37d	30c
5%	28,64c	24,17f	29,42f	28,8c	34,83c	54,26e	51,66f	26,15f	42,73e	6,25d

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

3.1.4. Effet des poudres sur la viabilité des œufs (taux d'émergence)

Les taux de viabilité des œufs en fonction des doses des différentes poudres végétales sont présentés dans la figure 13.

La viabilité des œufs d'*A. obtectus* dans les lots non traités (témoin) est de $33,29 \pm 2,68\%$. La poudre de thym réduit la viabilité des œufs dès la dose de 4% et l'annule complètement à 5%.

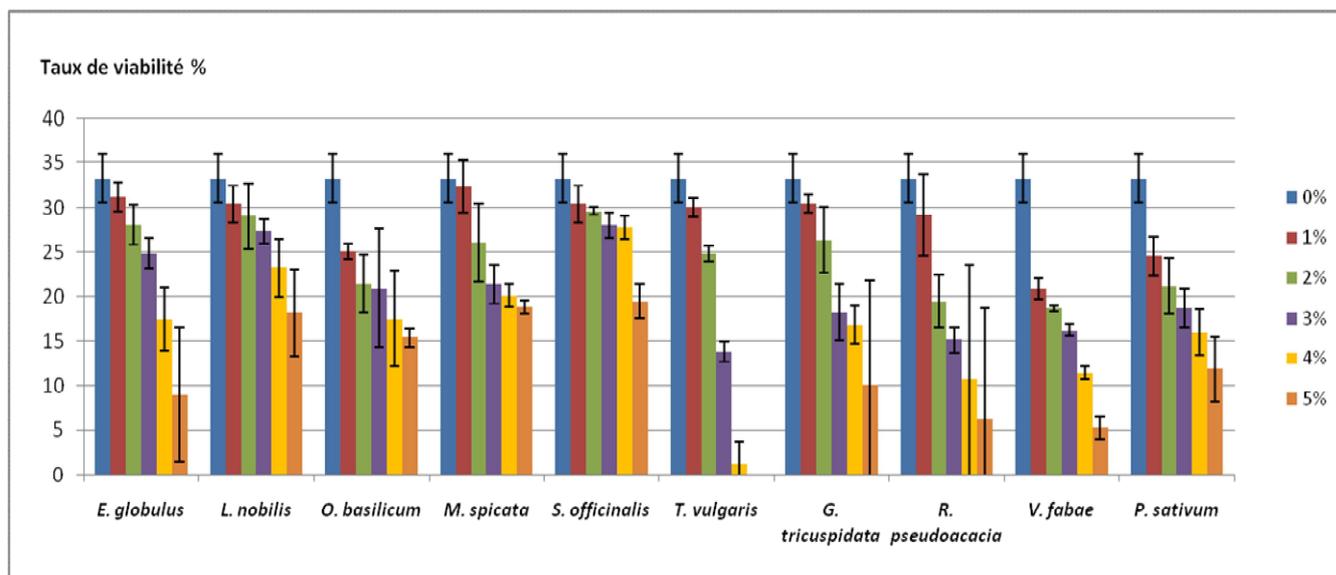


Figure 13. Taux moyen de viabilité (\pm écart-type) des œufs d'*Acanthoscelides obtectus* après traitement par contact avec différentes doses des poudres végétales.

A la dose de 5%, les poudres des feuilles de fève, robinier, eucalyptus et genêt montrent des taux de viabilité des œufs les plus faibles qui sont respectivement de $5,28 \pm 1,29$; $6,25 \pm 12,5$; $9,01 \pm 7,56$; $10,07 \pm 11,72\%$ alors que la valeur la plus élevée est observée pour la poudre de sauge ($19,5 \pm 1,91\%$).

L'analyse statistique (Anova1) révèle des différences très hautement significatives pour le facteur dose pour toutes les poudres étudiées (Tab. 7).

Tableau 7. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur la viabilité des œufs d'*A. obtectus*.

	Basilic	Eucalyptus	Laurier	Genêt	Robinier	Fève	Pois	Menthe	Sauge	Thym
P	0,00009	00	0,00005	0,00007	0,00066	00	00	00	00	00
0%	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a	33,29a
1%	25,11b	31,175ab	30,40a	30,45a	29,15a	20,88b	24,53b	32,37a	30,40b	30b
2%	21,45bc	28,08ab	29,02a	26,37ab	19,51ab	18,69c	21,21bc	26,08b	29,59b	24,85c
3%	20,91bc	24,88b	27,33ab	18,23bc	15,14b	16,24d	18,70cd	21,37c	28b	13,8d
4%	17,51bc	17,44c	23,26b	16,87bc	10,79b	11,42 ^e	16de	20,12c	27,75b	1,25e
5%	15,39c	9,017d	18,22c	10,07c	6,25b	5,28f	11,87e	18,87c	19,5c	0e

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

3.2. Effet des poudres végétales sur les caractéristiques de la graine

3.2.1. Effet des poudres sur la perte en poids des graines

L'utilisation des poudres végétales montre qu'elles réduisent fortement les pertes en poids des graines de haricot au fur et à mesure que les doses augmentent (Fig.14).

La perte en poids maximale est observée au niveau du lot témoin, elle est de $31,86 \pm 1,36\%$. A la dose de 5%, les poudres de robinier, genêt, eucalyptus et laurier montrent les taux les plus faibles qui sont respectivement de $0,6 \pm 1,2$; $1,4 \pm 1,74$; $1,5 \pm 0,82$ et $2,9 \pm 0,84\%$. Les pertes les plus élevées sont enregistrées pour la poudre de fève ($11,47 \pm 0,99\%$).

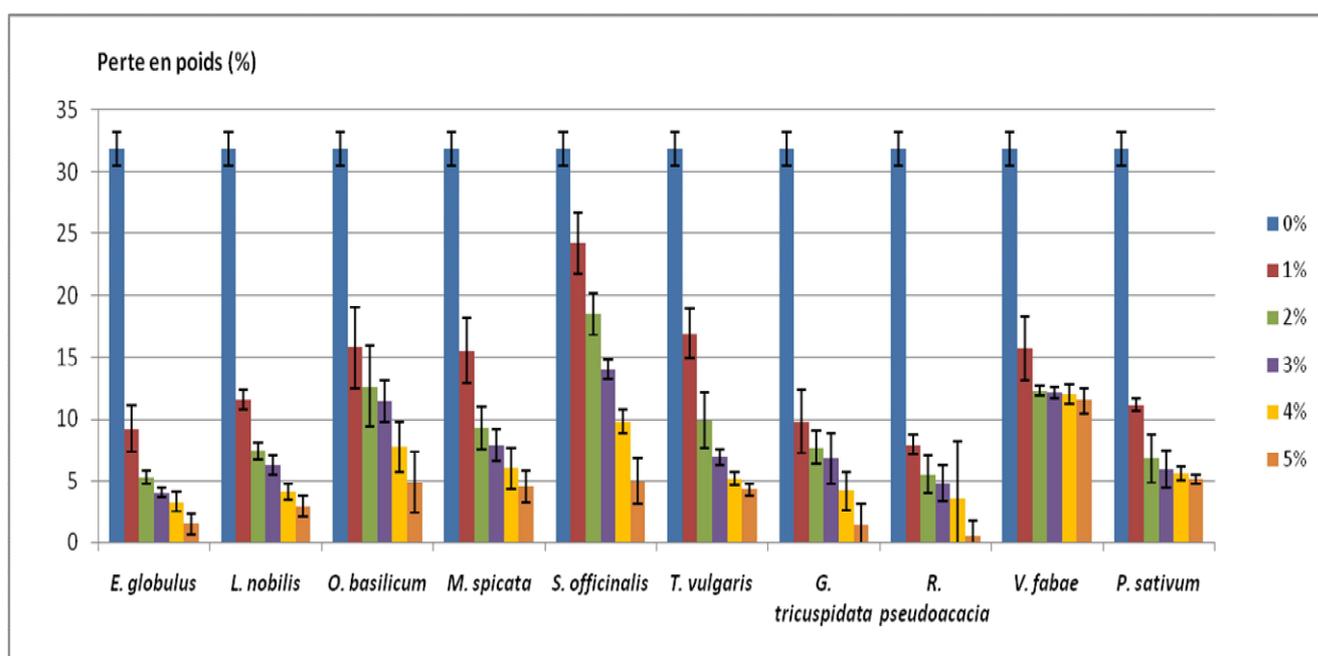


Figure 14. Perte moyenne en poids (%) (\pm écart-type) des graines de haricot traitées par contact avec différentes doses des poudres végétales.

L'analyse de la variance à un critère de classification montre des différences significatives pour les doses de chaque poudre utilisée, classées en groupes homogènes selon le test de Newman et Keuls au seuil de 5% (Tab. 8).

Tableau 8. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur la perte en poids des graines de haricot commun

Perte en poids	Basilic	Eucalyptus	Laurier	Genêt	Robinier	Fève	Pois	Menthe	Sauge	Thym
P	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
0%	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a	31,83a
1%	15,75b	9,2b	11,55b	9,8b	7,9b	15,68b	11,11b	15,5b	24,25b	16,9b
2%	12,62b	5,3c	7,4c	7,7b	5,5b	12,24c	6,8c	9,25c	18,5c	9,9c
3%	11,44b	4,05cd	6,3c	6,8bc	4,8b	12,11c	5,93c	7,87cd	14d	6,9d
4%	7,77c	3,3d	4,1d	4,2c	3,6bc	11,96c	5,6c	6de	9,75e	5,2de
5%	4,86c	1,5e	2,9d	1,4d	0,6c	11,47c	5,13c	4,5e	5f	4,3e

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

3.2.2. Effet des poudres sur la faculté germinative des graines

Les résultats obtenus lors de nos essais montrent une augmentation des taux de germination des graines avec l'augmentation des doses pour chaque poudre testée (Fig.15).

Le pouvoir germinatif des graines de haricot est évalué à un taux moyen de 96% (valeurs ne figurant dans la représentation graphique) alors qu'il est fortement réduit dans le lot témoin (non traité) à une valeur de $11,69 \pm 1,41\%$. La meilleure protection est assurée à la plus forte dose (5%) par les poudres de robinier ($93 \pm 2,97\%$), de petit pois ($90,21 \pm 5,17$), de genêt ($82,58 \pm 9,95\%$), de fève ($81 \pm 2,08\%$) et de basilic ($81 \pm 3,8\%$) ; la poudre de laurier a montré le taux de germination le plus faible de $68 \pm 3,26\%$.

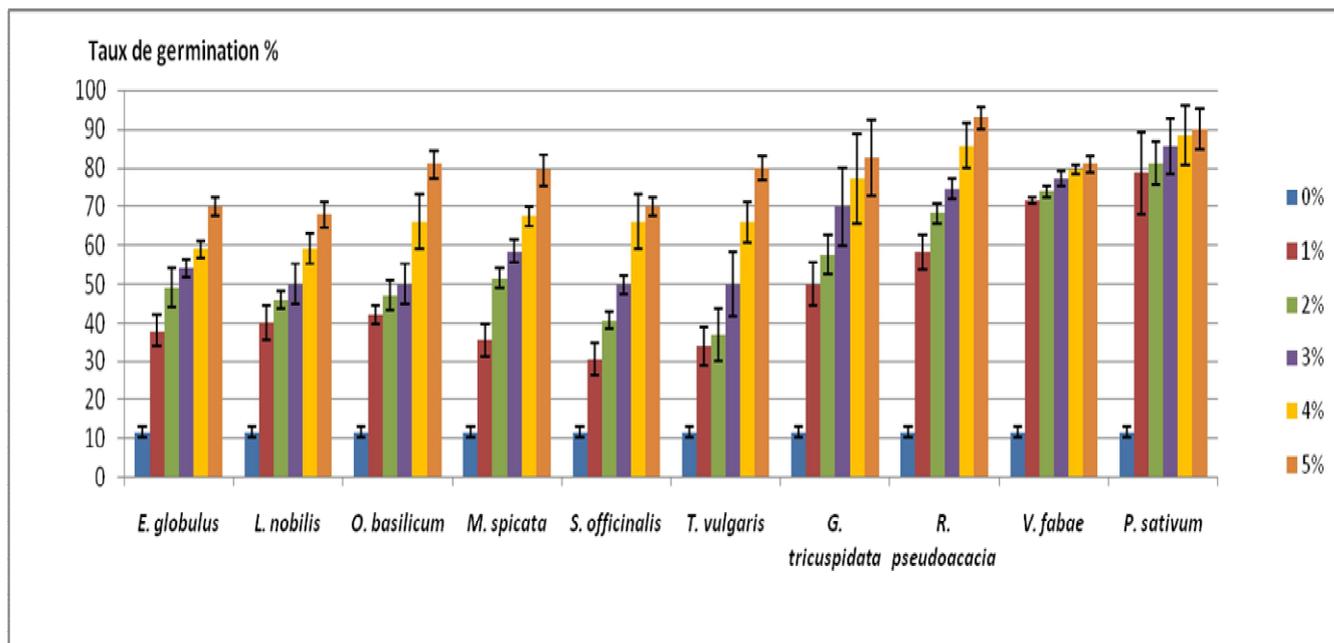


Figure 15. Taux moyen de germination (\pm écart-type) des graines de haricot traitées par contact avec différentes doses des poudres végétales.

L'analyse statistique fait ressortir des différences très hautement significatives ($P=0$) pour le facteur dose des différentes poudres étudiées groupées en groupes homogènes (Tab. 9).

L'analyse statistique comparative entre les différentes poudres par une analyse de la variance à deux facteurs de classification révèle des différences très hautement significatives ($P=0$) pour le facteur poudre et pour le facteur dose des poudres et cela pour tous les paramètres étudiés : longévité, fécondité, fertilité, viabilité, perte en poids et faculté germinative des graines (Tab. 10).

L'action des poudres sur la longévité des adultes classe la poudre de thym comme la poudre la moins efficace par opposition aux poudres de fève, basilic, laurier noble, pois, eucalyptus, genêt et robinier (réduisent la longévité dans l'ordre croissant).

La comparaison de la fécondité des femelles de la bruche du haricot permet de constater que les poudres de sauge, basilic, laurier noble, menthe et eucalyptus sont moins efficaces (ordre croissant) et s'opposent aux poudres de fève, thym, genêt, pois et robinier (effet par ordre croissant) qui manifestent une réduction relativement plus importante sur la fécondité des femelles.

Tableau 9. Résultats de l'analyse de la variance et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur le pouvoir germinatif des graines de *Phaseolus vulgaris*.

	Basilic	Eucalyptus	Laurier	Genêt	Robinier	Fève	Pois	Menthe	Sauge	Thym
P	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
5%	81a	70a	68a	82,58a	93a	81a	90,21a	79,5a	70a	80a
4%	66b	59b	59b	77,30a	85,8b	79,60a	88,43a	67,5b	66a	66b
3%	50c	54c	50c	69,87a	74,59c	77,28b	85,75a	58,5c	50b	50c
2%	47cd	49d	46c	57,49b	68,30d	73,77c	81,34a	51,5d	40,75c	37d
1%	42d	38e	40d	49,99b	58,34e	71,65c	78,66a	35,5e	30,5d	34d
0%	11,69e	11,7f	11,69e	11,69c	11,69f	11,69d	11,69b	11,69f	11,69e	11,69e

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 10. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur les paramètres biologiques d'*Acanthoscelides obtectus*

Poudres	Longévité	Poudres	Fécondité	Poudres	Fertilité	Poudres	Viabilité
Thym	9,7917a	Sauge	95,95a	Fève	67,22a	Sauge	28,09a
Menthe	8,83b	Basilic	87,41ab	Pois	64,78ab	Laurier	26,92ab
Sauge	8,54bc	Laurier	84,12ab	Sauge	63,03abc	Menthe	25,35ab
Fève	8,37bcd	Menthe	80,41abc	Basilic	56,56abcd	Eucalyptus	23,98abc
Basilic	8,29bcd	Eucalyptus	80,04abc	Menthe	55,49abcd	Genêt	22,5abcd
Laurier	8,08bcd	Fève	65bcd	Laurier	55,18abcd	Basilic	22,3abcd
Pois	7,75bcd	Thym	58,75cd	Eucalyptus	51,98bcde	Pois	20,9bcd
Eucalyptus	7,5cd	Genêt	53,2d	Thym	50,58cde	Robinier	19,02cd
Genêt	7,45cd	Pois	50,87d	Robinier	48,62de	Fève	17,63d
Robinier	7,25d	Robinier	41,7d	Genêt	42,02e	Thym	17,19d

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P=0: différences très hautement significatives pour tous les paramètres étudiés déterminées par une analyse de la variance à 2 facteurs. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Concernant la fertilité (taux d'éclosion des œufs), les poudres des feuilles d'eucalyptus, thym, robinier et genêt se sont montrées les plus efficaces (ordre croissant) par rapport aux poudres de fève, pois, sauge, basilic, menthe et laurier (effet par ordre croissant). Les poudres des feuilles de légumineuses semblent réduire plus la fécondité et la fertilité des femelles par rapport aux poudres de Lamiacées. A l'exception de la poudre de Thym (Lamiacée) qui réduit efficacement la viabilité des adultes au même titre que la fève, le robinier, le pois le basilic et le genêt (effet ordre décroissant) alors que la sauge, le laurier, la menthe et l'eucalyptus (effet croissant) sont relativement moins efficaces.

L'évaluation de la faculté germinative des graines de haricot distingue bien l'effet positif de l'utilisation des poudres des feuilles de légumineuses qui montrent des valeurs des taux de germinations les plus élevés pour le genêt, robinier, fève et pois (ordre croissant) en comparaison aux poudres de sauge, laurier, thym, eucalyptus, basilic et menthe (valeurs des taux du plus faible au plus élevé) ; parallèlement, les pertes pondérales les plus faibles sont enregistrées pour les poudres de robinier, d'eucalyptus et de genêt (Tab. 11).

Tableau 11. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des poudres végétales sur les caractéristiques agronomiques de la graine de *Phaseolus vulgaris*.

Poudres	Perte en poids	Poudres	Taux de germination
Sauge	17,22a	Pois	72,68a
Fève	15,88ab	Fève	65,83ab
Basilic	14,04bc	Robinier	65,29ab
Thym	12,50cd	Genêt	58,15bc
Menthe	12,49cd	Menthe	50,69cd
Pois	11,06cd	Basilic	49,61cd
Laurier	10,68cd	Eucalyptus	46,94d
Genêt	10,28d	Thym	46,44d
Eucalyptus	9,19d	Laurier	45,78d
Robinier	9,03d	Sauge	44,82d

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P=0: différences très hautement significatives pour les deux paramètres étudiés déterminées par une analyse de la variance à 2 facteurs. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

4. Discussion

Des plantes odorantes appartenant à différentes familles (Myrtaceae, Poaceae, Umbelliferae, Lauraceae, Myristicaceae) manifestent une activité insecticide à la fois sur les adultes et inhibitrice de la reproduction et protectrice sur les graines (Huignard et *al.*, 2011) ; la famille des Lamiacées étant la plus efficace notamment contre *A. obtectus* (Regnault-Roger et Hamraoui, 1993).

Nos résultats montrent qu'effectivement les poudres de Lamiacées (thym, sauge, menthe et basilic) exercent une activité insecticide sur *A. obtectus* notamment sur la viabilité des œufs (thym et basilic). Cependant, les poudres de Légumineuses montrent un effet létal le plus élevé sur les adultes de la bruche du haricot au même temps qu'un effet inhibiteur maximal de la reproduction notamment pour le robinier et le genêt. Leur effet est comparable à celui du thym et du basilic sur la viabilité des œufs. Très peu d'études ont testé des poudres de légumineuses sur les insectes phytophages des denrées stockées.

Bouchikhi Tani (2006) a montré que les substances qui composent les feuilles de *P. vulgaris* de la variété Rognon blanc et de la variété noire, présentent une incidence directe sur la fécondité des femelles d'*A. obtectus* ; elles provoquent des perturbations du comportement de l'insecte notamment l'accouplement et la ponte. La fertilité est également diminuée, elle passe 59,39% à 8,05% en présence de la poudre des feuilles de la variété noire qui s'est montrée plus efficace. L'auteur indique que l'analyse chimique de ces poudres a révélé des taux très élevés de polyphénols (34,95-38,22mg/g), tanins hydrolysables (8,07-8,44%), tanins condensés (2,65-3,42%) et des flavonoïdes (15,8-17,6%) avec de très faibles rendements en huiles essentielles.

La richesse en composés polyphénoliques pourrait être à l'origine de l'efficacité des poudres de légumineuses sur *A. obtectus*. D'après Regnault-Roger et *al.* (2002), l'analyse chromatographique des résidus botaniques hydrodistillés indique la présence de nombreux composés phénoliques, acides phénols et flavonoïdes qui provoquent la perturbation de la motricité de l'insecte ; de plus, la toxicité des polyphénols est corrélée positivement avec le pouvoir attractif du composé.

D'une grande diversité (plusieurs milliers de substances décrites), les polyphénols sont largement répandus dans la nature et particulièrement dans le règne végétal. Ils sont impliqués

dans plusieurs activités physiologiques et écologiques conférant une résistance des plantes aux infections fongiques, bactériennes et virales (Harborne, 1980) et réduisent l'action des insectes ravageurs à travers des effets dissuasif (répulsif) et antinutritionnels (Regnault-Roger et *al.*, 2004).

Les flavonoïdes ont également des effets néfastes sur les insectes, ils réduisent significativement la ponte chez *C. chinensis* de même qu'une toxicité à l'égard des adultes (Salunke et *al.*, 2005).

Il faut également signaler que malgré que les poudres de légumineuses soient très pauvres en huiles essentielles, celles-ci pourraient jouer un rôle de synergie avec les autres composés notamment les polyphénols.

Righi-Assia (2010) a testé les poudres des feuilles et des fleurs de pois chiche (*C. arietinum*) sur *C. chinensis* et a montré qu'elles ont un rôle bioinsecticide notable avec un effet supérieur des poudres des feuilles par rapport aux poudres de fleurs. Elles diminuent la longévité de l'insecte et réduisent la fécondité des femelles à 65,33 œufs/femelle à la plus forte dose (un gramme) des poudres des feuilles contre 112,33 œufs/femelle enregistrés dans le lot témoin.

De nombreux travaux ont évalué l'effet insecticide de plusieurs plantes aromatiques. Selon Bouchikhi Tani (2011), les poudres extraites des plantes d'*Artemisia herba-alba* (Asteracées), *Rosmarinus officinalis* et *Origanum glandulosum* (Lamiacées) diminuent considérablement la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Ndomo et *al.* (2009) ont testé l'efficacité de la poudre des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtacées) contre les adultes d'*A. obtectus* et concluent que cette poudre est inefficace à l'égard des adultes de la bruche du haricot aux doses testées étant donné qu'aucune mortalité n'a été enregistrée au bout de quatre jours d'exposition.

Paul et *al.* (2009) ont testé l'efficacité des feuilles complètes ou pulvérisées d'*Azadirachta indica* (neem), *C. ambrosioides*, *Tagetes minuta* et *Cupressus lusitanica* appliquées à des taux de 1,5 Kg/ 100 Kg de graines de haricot contre *A. obtectus* et *Z. subfasciatus*. L'étude a révélé que le *C. ambrosioides* (feuilles pulvérisées ou non) est le plus efficace induisant une mortalité de 100% après 3 jours d'exposition sans donner de descendants.

Gakura et Buledi (1993) ont étudié l'efficacité des poudres extraites du tabac *Nicotiana tabacum* et de la citronnelle *Cymbopogon citratus* sur la conservation des graines de niébé et ils ont démontré qu'après 5 mois de conservation, les plus fortes doses de la citronnelle et du tabac (7,5%) ont donné des taux d'attaque correspondant respectivement à 71,5% et 49,5% pour 500g de graines. Cela explique que ces poudres n'occasionnent pas une mortalité complète des adultes d'*A. obtectus* et la poudre du tabac est plus efficace par rapport à la poudre de la citronnelle.

Tapondjou et al. (2003) ont évalué l'effet insecticide des poudres extraites des feuilles de *C. ambrosioides* et *E. saligna* vis-à-vis de la bruche du niébé (*C. maculatus*). Les résultats des tests par contact montrent qu'après quatre jours, les plus fortes doses de poudre (0,4% dans le cas de *C. ambrosioides* et 10% dans le cas de *E. saligna*) ont occasionné respectivement des mortalités de 92 et 57% et les valeurs de DL50 calculées au deuxième jour d'exposition montrent que la poudre de *C. ambrosioides* est plus efficace que celle de *E. saligna*.

Kaloma et al. (2008) ont testé l'effet des poudres d'*Eucalyptus citriodora*, de *C. lucitanica* et de *Tagetes minitiflora* dans la conservation des graines du maïs (*Z. mays*) et du haricot (*P. vulgaris*) pendant dix mois contre *A. obtectus*, et ont prouvé que ces poudres sont efficaces notamment la poudre de *T. minitiflora* dont le taux moyen d'infestation est inférieur à 1%.

Ketoh (1998) a montré que *Cymbopogon shoenanthus* (Poacées) et *Lavandula* sp (Lamiacées) sont très toxiques sur les adultes de *C. maculatus*.

Hamdani (2012) montre que la fécondité moyenne des femelles d'*A. obtectus* est de 107, 113,5, 117 et 37,75 œufs / 5 femelles à la dose 2% (0,5g) dans les lots traités avec les poudres des feuilles de citronnier, oranger, pamplemoussier et bigaradier (Rutacées) respectivement. Par contre, à la dose 10% le nombre moyen d'œufs pondus diminue à 48,75 ; 52,5 et 53,75 respectivement pour les poudres de citronnier, l'oranger et de pamplemoussier, alors qu'il s'annule pour la poudre de bigaradier.

Kellouche et Soltani (2004) et Kellouche (2005) montrent que les poudres des feuilles de figuier *Ficus carica* (Moracées), *Eucalyptus globulus* (Myrtacées), d'olivier *Olea europaea* (Oleacées) et du *Citrus limon* (Rutacées) affectent légèrement la fécondité des femelles de *C.*

maculatus. Cependant, la poudre de giroflier *Syzygium aromaticum* (Myrtacées) inhibe la fécondité des femelles de la bruche du niébé dès la plus faible dose (0,20%).

Bouchikhi Tani (2006) a prouvé que le taux d'éclosion des œufs d'*A. obtectus* s'annule à la dose de 100mg/ 100 graines de la substance des feuilles des variétés de *P. vulgaris* (variété rognon blanc et variété noire). Kassemi (2006) a constaté que les feuilles de deux variétés de *P. vulgaris* blanche et marron réduisent significativement le taux d'éclosion des œufs des adultes d'*A. obtectus* proportionnellement à l'augmentation de la dose.

En outre, les travaux de Kellouche et Soltani (2004) ont montré que les poudres extraites des plantes d'*E. globulus*, de *C. Limon*, de *O. europeae*, et notamment de *S. aromaticum* et de *F. carica* peuvent avoir une action biocide, soit en diminuant l'adhésivité des œufs de *C. maculatus* sur le tégument des graines, soit en agissant sur l'embryon après leur pénétration à travers le chorion.

L'efficacité des poudres de plusieurs plantes sur l'émergence des bruches a été mise en évidence par de nombreux chercheurs. Ainsi, Kaloma et al. (2008) montrent que la poudre de *T. minitiflora* diminue significativement le nombre d'imagos émergés d'*A. obtectus* à une dose de 27g de poudre/ 270g de graines de haricot.

Mushambanyi (2003) a démontré que les poudres obtenues de *Maesa lanceolata* (Maesacées), *Agava americana* (Agavacées) et *T. minuta* (Asteracées) réduisent considérablement le nombre de bruches d'*A. obtectus* émergeant dans les stocks pendant 6 mois à la dose de 30 g/kg de graines. En effet, le nombre moyen d'émergences dans les lots de haricot traités avec la poudre de *M. lanceolata* est de 1,1 contre 73 individus dans les lots témoins, et de 3 à 5 individus pour la poudre d'*A. americana*.

Seck et al. (1996) ont montré que l'utilisation des fruits de *Boscia senegalensis* (Capparacées) à la dose de 1,2 g/l réduit considérablement les émergences de *C. maculatus*, alors que pour une dose de 2,4- 4,8 g/l, l'émergence de la nouvelle génération de cette espèce est complètement inhibée.

Kellouche et Soltani (2004) ont rapporté que la poudre de clous de girofle a un effet très considérable sur l'émergence des adultes de *C. maculatus*. En fait, cette poudre empêche toute émergence dès la plus faible dose (0,2%). Selon Kellouche (2005), la réduction des descendants de la première génération de *C. maculatus* est supérieure à 90% dans les traitements réalisés avec la poudre de feuille de figuier.

De nombreuses études se sont intéressées aux effets des traitements par les poudres sur les caractéristiques agronomiques de la graine notamment la perte pondérale et le pouvoir germinatif des graines. C'est le cas des travaux de Kaloma et *al.* (2008) qui rapportent que la poudre de *T. minitiflora* s'est révélée plus efficace sur les graines de haricot avec une perte en poids inférieure à 5%. Mushambanyi (2003) a constaté, aussi, que la perte en poids des graines du haricot traitées avec la poudre de *M. lanceolata* (Myrsinacées) en stock oscille entre 0,001 et 0,003 % contre 33,7 % (témoin non enrobé), de plus, la perte en poids dans les lots traités avec la poudre d'*A. americana* est entre 0,005-1,6 % contre 53 à 87 % pour les témoins.

Les travaux de Paul et *al.* (2009) ont évalué l'efficacité des poudres des feuilles d'*A. indica* (neem), *C. ambrosioïdes*, *T. minuta* et *C. lusitanica* sur les adultes d'*A. obtectus* et *Z. subfasciatus* et leurs effets sur la germination des graines. Ces auteurs ont montré que les graines non traitées sont plus endommagées (67% de pertes après 5 mois d'application) que celles traitées par les différentes poudres ; de plus, la faculté germinative reste proche de 100% après trois mois de traitement chez les graines traitées et le témoin et moins de 50% des graines non traitées ont germé après 5mois de stockage contre 60 à 70% pour les graines traitées.

L'effet des poudres végétales sur le pouvoir germinatif des graines a été étudié par plusieurs auteurs dont Bouchikhi Tani (2006) qui a noté que la poudre des feuilles de *P. vulgaris* conserve le pouvoir germinatif des graines de haricot et peuvent être destinées à la semence, où cette substance ne présente aucun effet négatif sur leur pouvoir germinatif.

Hamdani (2012) a montré que les poudres des plantes jouent un rôle important dans la protection de la faculté germinative des graines du haricot. Les résultats obtenus par cet auteur, montrent que le taux de germination des graines de *P. vulgaris* est en moyenne de 48,5% à la dose la plus faible (2%) des poudres de l'oranger, du citronnier, du pamplemoussier et du bigaradier ; ce taux atteint une moyenne de 84,25% à la dose 10% (2,5g) pour l'ensemble des poudres. De plus, il a constaté que la poudre extraite de bigaradier est la plus efficace vu qu'elle a enregistré dès la plus faible dose un taux de germination égale à 69%.

Selon le même auteur, la perte en poids des graines de haricot traitées avec la poudre de bigaradier est négligeable (1,25g à la dose 2%) comparativement à celle enregistrée dans les lots témoins (8,25g).

1. Introduction

Les huiles essentielles, appelées communément essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous formes de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches et le bois (Padrini et Lucheroni, 2006). Ce sont des mélanges de composés lipophiles, souvent liquides. Elles se distinguent des huiles végétales par leur volatilité chimique (Regnault-Roger et *al.*, 2005).

Pour Chiasson et Beloin (2007), les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Elles contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes. Ces essences aromatiques sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (Bruneton, 1999).

Un très grand nombre de plantes aromatiques d'origines géographiques différentes est étudié et ont révélé des effets biocides contre divers ravageurs des cultures et même contre les bactéries et les champignons. Des plantes méditerranéennes odorantes appartenant à différentes familles comme les Myrtaceae, les Poaceae, les Umbelliferae, les Lauraceae et les Myristicaceae exercent un effet protecteur sur les graines de Légumineuses soit en provoquant la mort de l'insecte, soit en inhibant sa reproduction (Huignard et *al.*, 2011). Les Lamiaceae sont les plus efficaces ; c'est notamment le cas du thym (*Thymus vulgaris* L.), du romarin (*R. officinalis* L.) et de l'origan (*Origanum vulgare* L.) (Regnault-Roger et Hamraoui, 1993).

D'après Regnault-Roger et Hamraoui (1995), l'analyse chromatographique en phase gazeuse identifie les monoterpènes comme étant les composés majoritaires des huiles essentielles ; ils développent une toxicité aigüe sur les adultes de la bruche du haricot et des activités ovicides et larvicides précoces ou tardives. Le linalool, très abondant chez la coriandre (*Coriandrum sativum*), est le composé le plus toxique sur *A. obtectus* alors qu'il est le moins toxique sur la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitis capitata*).

Les plantes sont aussi riches en composés polyphénoliques, acides phénols et flavonoïdes dont les plus abondants sont l'acide rosmarinique et la lutéoline - 7- glucoside. Ils provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte qui peut se manifester soit rapidement (quercétine) ou tardivement (acide vanillique) s'accompagnant parfois d'un effet

knok down, c'est-à-dire l'effet de paralysie des muscles et du système nerveux des insectes entraînant leur mort (acide caféique). La toxicité des polyphénols est positivement corrélée au pouvoir attractif des composés (Regnault-Roger et *al.*, 2002).

D'après Padrini et Lucheroni (2006), les essences peuvent être produites selon différents procédés : par pression, distillation dans un courant de vapeur ou par l'enfleurage.

Les propriétés insecticides de ces huiles citées par Regnault-Roger et *al.* (2004) sur la bruche peuvent être ainsi résumées en :

- une toxicité par inhalation provoquée par leur richesse en composés volatiles ;
- une toxicité par contact qui provient de la formation d'un film imperméable isolant l'insecte de l'air provoquant son asphyxie ;
- mais aussi d'une pénétration en profondeur grâce au caractère amphibolique de certains de leurs composés.

Pour Regnault-Roger (2002), les biopesticides d'origine végétale présentent des caractères qui font d'eux des phyto-insecticides potentiellement efficaces et respectueux de l'environnement à condition que cela soit pratiquement faisable. Parmi ces caractères :

- **Spécificité** : plusieurs travaux ont montré qu'il existe une grande variation dans la sensibilité d'une espèce d'insecte à une même huile essentielle. Celle-ci n'exerce pas systématiquement la même activité sur les différents stades de développement de l'insecte d'où elles peuvent agir à des moments déterminés sur l'espèce ciblée.
- **Biodégradabilité** : les molécules allélochimiques appartiennent au métabolisme secondaire et sont donc facilement biodégradées par voie enzymatique ; et le phénomène de bioamplification n'a pas été, à ce jour, rapporté. Ce sont des molécules qui ne développent que peu de toxicité pour les Vertébrés.
- **Résistance** : la diversité des molécules allélochimiques végétales conduit à la diversification des cibles moléculaires et biochimiques chez l'insecte à condition, bien sûr, de limiter les fréquences d'utilisation et de varier les formulations en associant plusieurs composés à modes d'action différents.
- **Biodisponibilité** : bien qu'elles soient sujettes à plusieurs facteurs qui influencent leur biodisponibilité au sein d'une espèce donnée, les molécules allélochimiques végétales peuvent fournir des quantités suffisantes grâce à leur ubiquité dans l'ensemble du règne végétal.

- **Sélectivité** : il existe des médiateurs chimiques impliqués dans la communication entre les individus et entre les espèces du monde des plantes et des insectes. Les composés sémio-chimiques végétaux auraient un effet sélectif sur les espèces cibles.

Les biopesticides à base d'huiles essentielles forment une classe de pesticides intéressante puisqu'en étant constituées de plusieurs composés à mécanismes d'action multiples, elles ont des modes d'application variés et plusieurs formulations sont déjà disponibles sur le marché des produits phytosanitaires (Chiasson et Beloin, 2007).

Ce chapitre est consacré à l'étude de l'effet insecticide des huiles essentielles de neuf plantes aromatiques connues pour leur richesse en huiles essentielles : le citronnier, le mandarinier et le bergamotier (Rutacées), la lavande, la menthe poivrée et le thym (Lamiacées), l'eucalyptus (Myrtacée), le laurier noble (Lauracée) et le cèdre (Pinacées). L'évaluation de la toxicité par contact de ces huiles sur *A. obtectus* est faite à travers quatre paramètres : la longévité des adultes, la fécondité et la fertilité des femelles et la viabilité des adultes. L'effet de l'utilisation de ces huiles comme moyen de protection des récoltes sur les caractéristiques des graines est également étudié à travers deux paramètres : la perte en poids et la faculté germinative des graines de haricot. L'action par inhalation et par répulsion est également étudiée.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Les bruches et les graines de haricot

Les bruches proviennent d'un élevage de masse réalisé au laboratoire à une température de 27°C et une humidité relative de 75% et les graines proviennent du marché local.

2.1.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles du citronnier *Citrus limonum* L., du mandarinier *Citrus reticulata* L., du bergamotier *Citrus aurantium* L. ssp. *bergamia* (Rutacées), de la lavande *Lavandula angustifolia* L., de la menthe poivrée *Mentha piperita* L., du thym satureioïde *Thymus satureioides* L. (Lamiacées), d'Eucalyptus *Eucalyptus globulus* L. (Myrtacée) et du cèdre *Cedrus atlantica* Manetti (Pinacées) proviennent de France. Celle du laurier noble *Laurus nobilis* L. (Lauracée) est obtenue par extraction par hydrodistillation au laboratoire d'entomologie de l'UMMTO et conservée à 4°C dans des flacons à l'abri de la lumière.

2.1.2.1. L'huile essentielle de citronnier

Le Citronnier, de la famille des Rutacées, est un petit arbre épineux de 3 à 6m de hauteur à cime étalée et peu dense. Les feuilles sont composées, unifoliées, alternes, de forme variable et de couleur vert pâle. Le fruit est ovoïde, de 7 à 12cm de longueur à peau épaisse, adhérente, jaune clair et odorante à maturité (Clément, 1981).

L'huile essentielle utilisée est obtenue par expression à froid des zestes frais ; elle est composée de monoterpènes dont le composé majoritaire est le limonène (60 à 75%) accompagné de β -pinène (11 à 13%) et de γ -terpinène (8 à 10%) (Haubruge et *al.*, 1989)

2.1.2.2. L'huile essentielle de mandarinier

Le Mandarinier, de la famille des Rutacées, est un petit arbre de 3 à 5m à feuillage persistant d'un vert foncé brillant. Il présente des fleurs blanches parfumées et un fruit ronds de 5 à 8cm de diamètre, le plus souvent de couleur jaune orange (Loussert, 1989).

L'huile essentielle utilisée est obtenue par expression à froid des zestes et sa composition chimique est caractérisée par la prédominance du limonène (78 à 92%), γ terpinène (4 à 14%), α -pinène et β -pinène et du linalool avec des proportions très faibles (Bruneton, 1993).

2.1.2.3. L'huile essentielle de bergamotier

Le bergamotier est un petit arbre de 4 à 5 cm de haut, dont le fruit est blanc et très parfumé est d'une dizaine de cm de diamètre avec une écorce jaune verdâtre épaisse et criblée de vésicules oléifères dont on extrait l'huile essentielle (Loussert, 1989).

L'huile essentielle utilisée est celle de la bergamote, extraite par pression à froid du zeste des fruits, elle est importée de France.

Le pourcentage des différentes composantes chimiques de l'huile essentielle données par le laboratoire Sanoflore est illustré dans le tableau 4.

Il ressort du tableau que l'huile essentielle de Bergamote est composée majoritairement de limonène (43,09%), acétate de linalyle (24,82%) et linalool (9,15%). Des proportions comparables sont rapportées par Rossi et *al.* (2012), soient 38,4% de limonène et 27,2 d'acétate de linalyl.

2.1.2.4. L'huile essentielle de laurier noble

Le Laurier noble, de la famille des Lauracées, est originaire de l'Asie mineure, de l'ensemble des pays méditerranéens, l'Ex-Yougoslavie ainsi que l'Inde (Teuscher et *al.*,

2005). Le fruit est une drupe ovale de la taille d'un pois, noire à l'état mure, n'est pas comestible mais utilisé à des fins médicales (Schirner, 2004).

L'huile essentielle utilisée est obtenue par hydrodistillation des feuilles de laurier récoltées dans la région de Tizi-Ouzou. Son composé majoritaire est le 1,8-cineole associé avec les hydrocarbures terpéniques : α -terpinène et sabinène (Gilly, 2005).

Selon Mediouni Ben Jemâa et al. (2012), l'huile essentielle des feuilles de laurier récolté à Tizi-Ouzou présente trois composés majoritaires, le 1,8-cineole (34,62%), le linalool (12,57%) et l'isovaleraldehyde (8,82%) avec des composés à pourcentages les plus élevés, en comparaison avec la même huile récoltée au Maroc et en Tunisie, qui sont le pentane (2,14%), le phénol (1,73%) et le terpinène (0,92%).

Tableau 12. Pourcentage des composants chimiques de l'huile essentielle de la bergamote (Fiche technique du Laboratoire Sanoflore, 2012).

Composés	Pourcentage
α -pinène	1,26
B-pinène	8,45
Myrcène	1,07
Limonène	43,09
B-phélandrène	0,22
γ -terpinène	7,45
Linalool	9,15
Nerol	0,2
Acétate de linalyl	24,82
Géranol	0,03
Géranial	0,27
Acétate de néryl	0,29
B-caryophyllène trans - α	0,25
Acétate de géranyl	0,25
Bérgamotène	0,23
Bisabolène	0,32

2.1.2.5. L'huile essentielle de l'eucalyptus

Originnaire d'Australie, l'eucalyptus (Myrtacées) est cultivé dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées ; très exigeant en eau, il empêche la croissance des plantes indigènes voisines. L'eucalyptus est un arbre à croissance rapide pouvant atteindre une hauteur de 20 mètres en l'espace de 8 ans.

L'huile essentielle est obtenue par distillation complète des feuilles d'*E. globulus* par entraînement à la vapeur d'eau. Elle se présente sous forme d'un liquide, jaune clair avec une odeur fraîche caractéristique de l'eucalyptol (1,8-cinéole).

D'après la fiche technique du laboratoire Arkopharma et Bruneton (1993), l'huile essentielle d'*E. globulus* est majoritairement constituée d'un oxyde terpénique le 1,8 cinéole (82,42%). Elle contient aussi des Mono-terpènes : limonène (8,47%), alpha -pinène (3,45%), bêta-pinène (0,38%), para-cirène (3,53%), des Monoterpénols : alpha terpinéol (0,06%) et des sesquiterpènes : aromadendrène (0,02%). Le point éclair (température à laquelle le produit devient inflammable) est de 49°C.

2.1.2.6. L'huile essentielle de cèdre

Le cèdre de l'Atlas (Pinacées) est un arbre résineux de grande taille, pouvant atteindre 40 m de hauteur et parfois plus, à fût droit présentant un port pyramidal dans la jeunesse, avec des ramifications de premier ordre souvent redressées, puis faisant la table chez les sujets âgés. Les aiguilles de 1 à 2 cm de long sont groupées en petits bouquets sur les rameaux (Debazac, 1991).

L'huile essentielle de cèdre utilisée dans notre expérience provient d'une extraction effectuée au laboratoire Omega pharma de France. Elle est distillée à partir du bois du cèdre de l'Atlas d'Afrique. C'est une huile caractérisée par une densité de 0.946 et un indice de réfraction de 1.517. La fiche technique indique la présence de deux composés majoritaires qui sont le β -himachalène (30%) et le trans- α - atlantone (14.8%). Elle contient aussi en plus faibles quantités de l' α -himachalène 9.5% et du γ -himachalène 6.8%.

2.1.2.7. L'huile essentielle de lavande

La lavande (Lamiacée) est une plante aromatique des régions méditerranéennes aux feuilles vert grisâtres et fleurs en épi bleu violacées. C'est une espèce à fécondité croisée dont la pollinisation est assurée par les insectes. Leurs variétés sont différenciées selon la taille, la robustesse et l'abondance des tiges, l'élongation des inflorescences et les caractéristiques de l'essence où on peut distinguer deux espèces principales : la lavande aspic (*L. lotifolia*) et la lavande vivace, ou la lavande fine (*L. angustifolia*) (Aubineau et al., 2002).

Dans notre étude, nous avons utilisé l'huile essentielle de *L. angustifolia* qui est une substance aromatique volatile d'origine végétale, extraite par distillation (entraînement à la vapeur d'eau) de la partie la plus riche en essence par les laboratoires pharmaceutiques Arkopharma.

Les huiles essentielles de la lavande contiennent 31% de linalool, 38% de l'acétate de linalyle et moins de 1% de camphre et d'eucalyptol (Bellakhdar, 1997).

2.1.2.8. L'huile essentielle de menthe poivrée

La menthe poivrée, de la famille des Lamiacées, est une plante vivace, herbacée à rhizome chevelu long et traçant. La tige, de 30 à 50 cm de haut, est violacée, de section carrée et se divise en rameaux opposés. Les feuilles, vertes, ovales, lancéolées et dentées, sont opposées et courtement pétiolées. Les fleurs violacées, forment des épis très courts, ovoïdes, à l'extrémité des rameaux. C'est une plante très aromatique qui préfère les sols frais et humides, bien drainés et humifères (Aubineau et *al.*, 2002).

L'huile essentielle de menthe poivrée est obtenue par hydrodistillation des feuilles. Elle se présente sous forme d'un liquide limpide, jaune clair avec une odeur triestine et agréable de menthe verte. Elle est majoritairement composée d'un monoterpénone, le carvone (62,96%) et d'un monoterpène, le limonène (17,15%). Des proportions comparables sont rapportées par (Tab. 13).Kumar et *al.*, 2011a).

Tableau 13. Principaux constituants de l'huile essentielle de la menthe poivrée (Fiche technique du laboratoire Sanoflore, 2012).

Principaux constituants		Pourcentage (%)
Monoterpènes	Limonène	17,15
	Alpha-pinène	1,22
	Béta-pinène	1,32
	Myrcène	1,26
Monoterpénols	Menthol	1,54
Monoterpénones	Carvone	62,96
	Hydrocarvone	1,78
Oxyde terpénique	1,8-cinéole	1,52
Sesquiterpènes	Béta-caryophyllène	0,92

2.1.2.9. L'huile essentielle de thym

Le thym à feuilles de sarriette ou thym saturioïde (Lamiacée) est un sous arbrisseau très aromatique de 10 à 30cm de hauteur, vivace. C'est une plante qui présente une tige ligneuse et tortueuse à rameaux ascendants. Ses feuilles sont petites, opposées, lancéolées ou linéaires, enroulées sur les bords. Les fleurs sont roses à blanchâtres, groupées en glomérules

formant un épi plus ou moins serré. C'est une espèce originaire de l'Afrique du Nord qui pousse spontanément sur des sols caillouteux et secs (Aubineau et *al.*, 2002).

Il existe plusieurs races chimiques de thym dont la composition chimique de l'huile essentielle varie suivant le biotope dans lequel il évolue. L'huile essentielle de thym testée, est extraite par distillation à la vapeur d'eau des sommités fleuries. Les composés majeurs sont un terpène, le bornéol (26,40%), un phénol, le thymol (11,40%) et un phénol monoterpénoïde, le carvacrol (8,76%) (Bouhdid et *al.*, 2006).

2.2. Méthodes

2.2.1. Elevage des bruches

Un élevage de masse de la bruche est réalisé afin de produire un nombre suffisant d'adultes pour les différents essais (Cf. Chapitre III, p.20).

2.2.2. Evaluation de l'effet par contact des huiles essentielles sur *A. obtectus*

Les essais par contact des huiles essentielles sont réalisés selon la méthode décrite par Raja et *al.* (2001). Des poids de 25g de graines de haricot introduites dans des boîtes de Pétri sont traités aux huiles essentielles du citronnier, du mandarinier (Rutacées), de lavande (Lamiacées), d'eucalyptus (Myrtacée), de cèdre (Pinacées) et de laurier noble (Lauracée) aux doses de 2µl ; 4µl ; 6µl ; 8µl ; 10µl. Des doses plus faibles sont utilisées pour le reste des huiles essentielles ; soient 0,5ul 0,75ul 1ul 2ul pour l'huile de bergamotier, 0,5ul, 1ul, 2ul, 4ul et 6ul pour l'huile de menthe poivrée et de 0,25ul 0,5ul 0,75ul 1ul et 2ul pour l'huile de thym saturéioide.

Cinq couples de bruches âgés de 0 à 24 heures sont introduits dans les boîtes de Pétri (Fig. 16). Un lot témoin non traité (0µl) est réalisé et quatre répétitions sont effectuées pour toutes les doses et pour le témoin. L'ensemble des boîtes de Pétri est placé dans les mêmes conditions citées dans le chapitre V. Les paramètres biologiques d'*A. obtectus* et les paramètres agronomiques de *P. vulgaris* sont évalués (Cf. chapitre V, p. 32 et 33).



25g+5 couples + Dose : 0µl (Témoin)



25g+ 5couples + X Dose d'huile

Figure 16. Test par contact des huiles essentielles des plantes aromatiques contre *A. obtectus* (Originale, 2013).

2.2.3. Evaluation de l'effet répulsif des huiles essentielles sur *A. obtectus*

Ce test est utilisé pour calculer le pourcentage de répulsion d'une huile à l'égard de la bruche par la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par Jilani et Saxena (1990). Des disques de papier filtre de 11cm de diamètre, sont coupés en deux parties égales, une moitié du papier est traitée avec l'huile essentielle additionnée d'acétone et l'autre moitié est traitée avec de l'acétone uniquement

Des doses de 10µl, 30µl, 60µl, 80µl pour les huiles sont diluées respectivement dans 0,5ml d'acétone, pour que la répartition d'huile soit homogène sur le papier filtre.

La solution (huile+acétone) est uniformément répartie sur un demi-disque de papier filtre et l'autre demi-disque reçoit de l'acétone uniquement. Les deux demi-disques de papier filtre sont séchés à l'air libre et le disque est reconstitué puis mis dans une boîte de Pétri.

Cinq couples de bruches âgés de 0 à 24h sont déposés sur les papiers filtres au milieu des boîtes de Pétri (Fig. 17) et quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose et pour chaque huile.

Après une demi-heure de traitement des bruches dans les conditions de laboratoire, le dénombrement de ces derniers sur les demi-disques est réalisé. Le pourcentage de répulsion (PR) est ainsi calculé selon la formule utilisée par Nerio et al. (2009) comme suit :

$$\text{PR (\%)} = \left[\frac{(\text{Nac}-\text{Nh})}{(\text{Nac}+\text{Nh})} \right] \times 100$$

Nac : Nombre de bruches présentes sur le demi-disque traité avec l'acétone.

Nh : Nombre de bruches présentes sur le demi-disque traité avec la solution huileuse.

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 14.

Tableau 14. Pourcentages de répulsion selon le classement de Mc Donald et *al.* (1970).

Classes	Intervalle de répulsion	Propriétés
Classe 0	$PR \leq 0,1\%$	Très faiblement répulsif
Classe I	$0,1\% < PR \leq 20\%$	Faiblement répulsif
Classe II	$20\% < PR \leq 40\%$	Modérément répulsif
Classe III	$40\% < PR \leq 60\%$	Moyennement répulsif
Classe IV	$60\% < PR \leq 80\%$	Répulsif
Classe V	$80\% < PR \leq 100\%$	Très répulsif

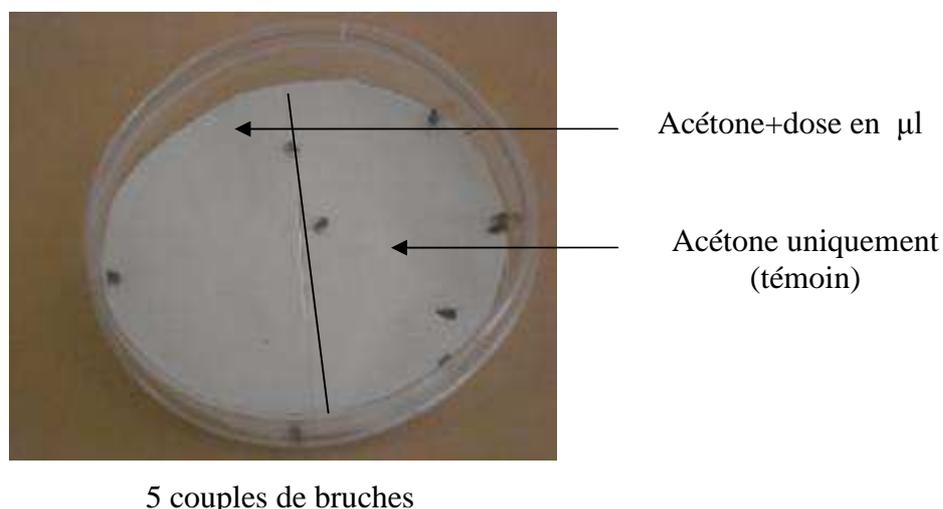


Figure 17. Test de répulsion des huiles essentielles des plantes aromatiques à différentes doses à l'égard d'*A. obtectus* (Originale, 2013).

2.2.4. Evaluation de l'effet par inhalation des huiles essentielles sur *A. obtectus*

L'effet par inhalation des huiles essentielles est étudié sur les adultes d'*A. obtectus* en adoptant la méthode décrite par Papachristos et Stamopoulos (2002a).

Dans des bocaux en verre (750ml de capacité), des masses de coton sont fixées par un fil au centre des couvercles. Des doses des huiles essentielles : 10 μ l, 30 μ l, 60 μ l et 80 μ l, correspondant à des concentrations calculées de 0 ; 10 ; 30; 60 et 80 μ l / 1litre de volume d'air, sont injectées dans la masse de coton. Parallèlement, un témoin n'ayant pas reçu d'huiles, est réalisé (Fig. 18).

Cinq couples de bruche âgés de 0 à 24 h sont mis rapidement dans les bocaux aussitôt fermés avec une bande adhésive. Quatre répétitions ont été effectuées pour chaque dose et pour le témoin.

Le dénombrement des individus morts est effectué au bout de 24h, 48h, 72h et 96h dans chaque bocal.



5 couples de bruches + 0 μ l d'huile (Témoin).



5 couples de bruches + x μ l d'huile.

Figure 18. Test d'inhalation effectué sur les adultes d'*A. obtectus* traités par différentes doses d'huiles essentielles. x μ l = 10 μ l, 30 μ l, 60 μ l, 80 μ l (Originale, 2010).

2.3. Analyse statistique des résultats

Les différents paramètres étudiés pour l'activité insecticide des huiles essentielles sont soumis à une analyse de la variance à un ou deux critères de classification en utilisant le logiciel Stat Box version 6.3. Dans le cas où les différences s'avèrent significatives, un test complémentaire de Newman et Keuls au seuil de 5% est effectué afin de comparer les moyennes et déterminer les groupes homogènes.

3. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles par contact

3.1. Action sur la biologie de l'insecte

3.1.1. Résultats

- Etude de la longévité des adultes

Les résultats obtenus montrent que la longévité des adultes de la bruche du haricot varie en fonction de l'huile essentielle appliquée par contact. Parmi les huiles utilisées aux doses de 0 ; 2 ; 4 ; 6 et 8 μ l, le laurier noble, le mandarinier et la lavande ont montré les valeurs de la longévité les plus faibles qui sont respectivement de $0,19\pm 0,011$; 1 ± 0 et $1,75\pm 0,95$ jours à la plus forte dose utilisée (8 μ l). A la même dose, les huiles d'Eucalyptus, cèdre et citronnier réduisent aussi la longévité des adultes mais avec un effet moindre ; elle est respectivement de $2\pm 0,81$; $5,75\pm 0,5$ et $2,07\pm 0,35$ jours (Fig.19).

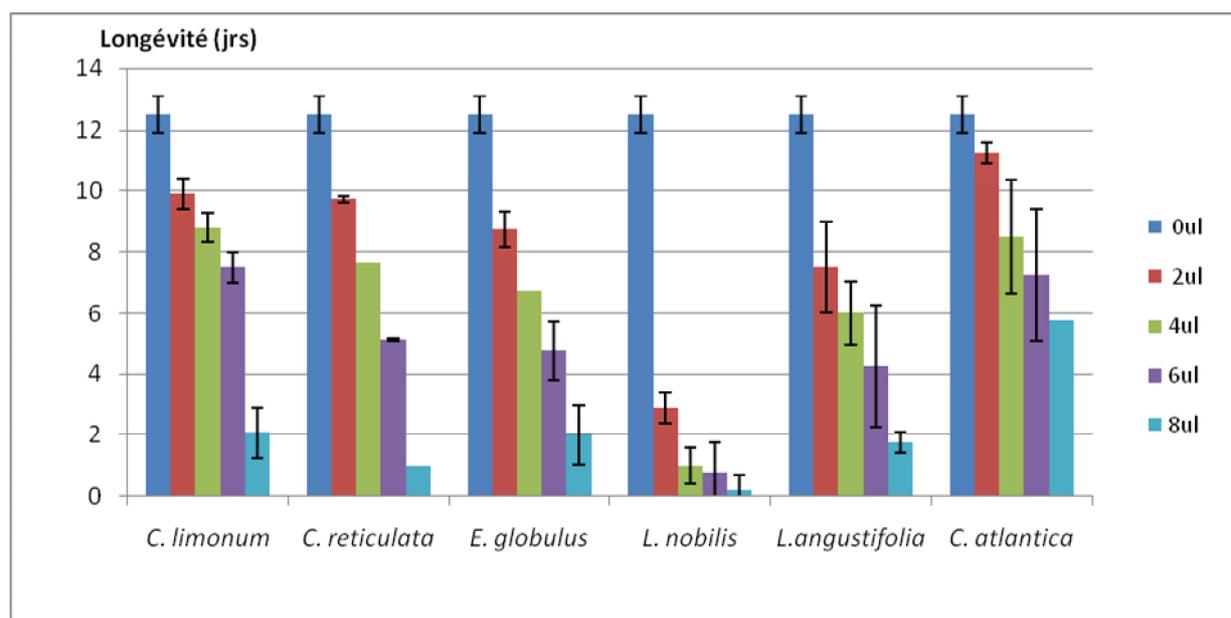


Figure 19. Longévité moyenne (\pm écart-type) des adultes de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

Les huiles de bergamote, thym et menthe poivrée sont utilisées aux doses plus faibles (0 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 et 2 μ l) ; elles se sont montrées beaucoup plus efficaces en enregistrant une longévité respectivement de 0 ± 0 , $1,75\pm 0,95$ et $3,5\pm 0,57$ jours à la plus forte dose de 2 μ l (Fig. 20).

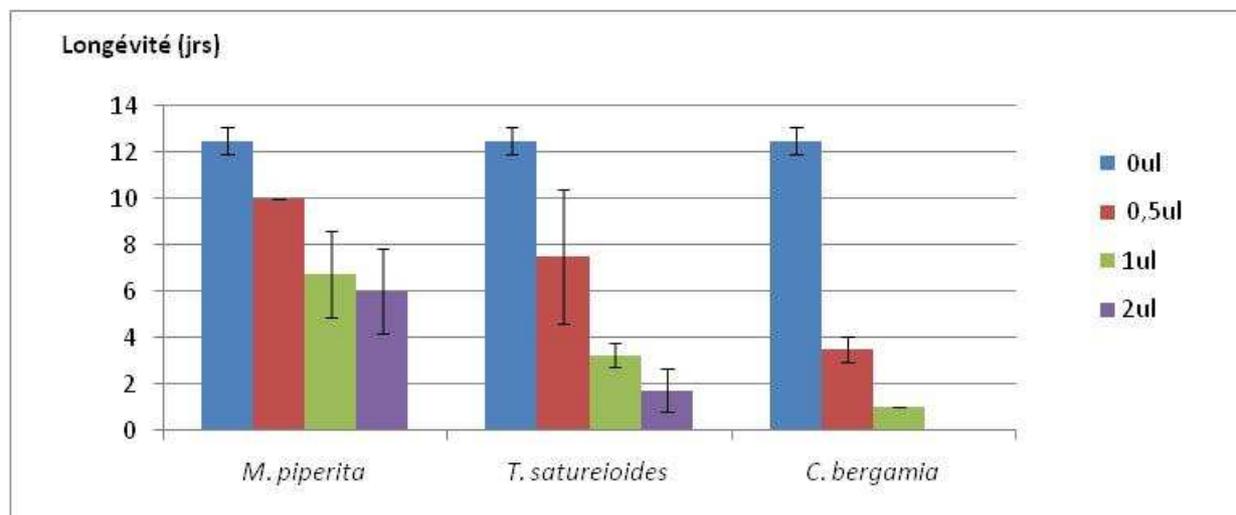


Figure 20. Longévité moyenne (\pm écart-type) des adultes de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

L'analyse de la variance à un facteur en fonction des doses a révélé des différences très hautement significatives ($P=0$) pour toutes les huiles utilisées montrant chacune des groupes homogènes (Annexes, Tab. 1 à 9). L'analyse de la variance comparative des huiles essentielles (Annexes, Tab. 10) a montré des différences très hautement significatives ($P=0,00016$) distinguant le laurier (groupe B) par rapport à toutes les autres huiles (groupe A). Des différences significatives ($P=0,02$) sont enregistrées pour les huiles testées à faibles doses plaçant l'huile de bergamote comme la plus réductrice de la longévité des adultes d'*A. obtectus* (Annexes, Tab. 12).

• Etude de la fécondité des femelles

La ponte des œufs chez *A. obtectus* se fait dans les 24 heures qui suivent l'accouplement. Le nombre d'œufs pondus varie en fonction des huiles essentielles et des doses utilisées. La fécondité moyenne dans les lots témoins est de $155,75 \pm 7,41$ œufs/5femelles. Elle diminue nettement en présence des huiles essentielles testées et de façon progressive avec l'augmentation des doses pour chaque huile (Fig.21).

En effet, à la plus forte dose ($8\mu\text{l}$), les huiles d'Eucalyptus et de mandarinier annulent complètement la ponte (0 ± 0 œufs/5femelles) et celles du citronnier et de laurier affectent notablement la fécondité qui est réduite à $1,25 \pm 2,5$ et $1,5 \pm 1,91$ œufs/5femelles respectivement. Les fécondités moyennes les plus élevées sont enregistrées en présence des huiles de lavande et de cèdre avec $11,75 \pm 6,94$ et $28,25 \pm 10,21$ œufs/5femelles.

L'huile de bergamote inhibe complètement la ponte dès la dose de 1 μ l et celle de thym réduit la fécondité à 1,75 \pm 2,06 à la dose de 2 μ l ; par contre la fécondité enregistrée pour l'huile de menthe est de 45,25 \pm 3,59 œufs/5femelles à la dose de 2 μ l et baisse à 15,25 \pm 1,5 à 6 μ l (Fig. 22).

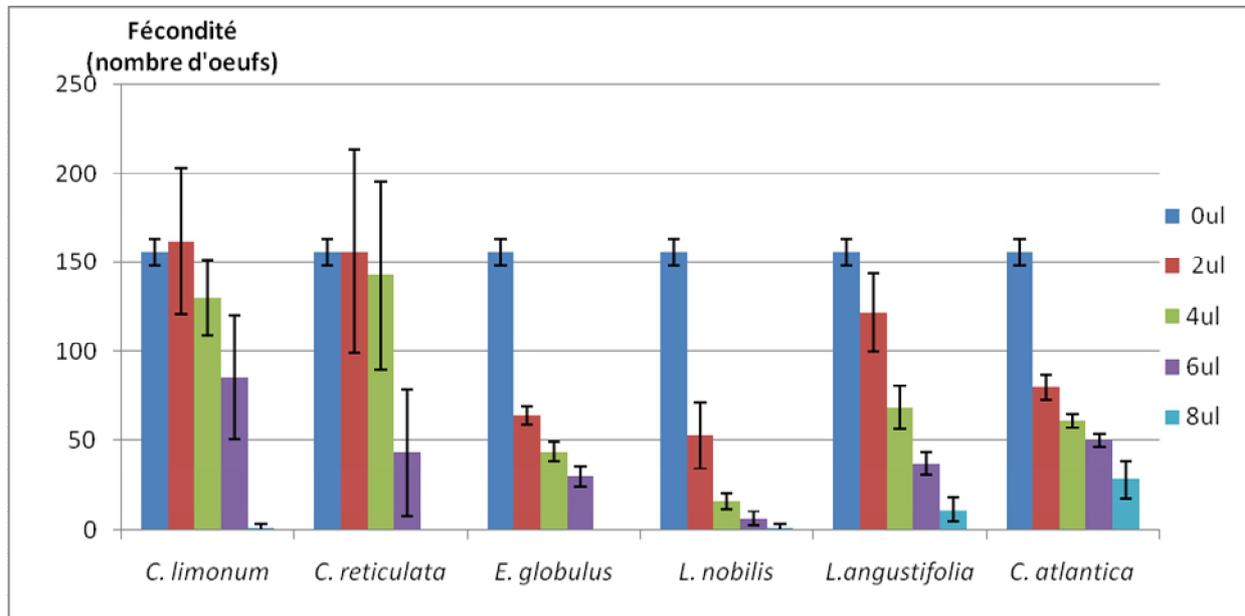


Figure 21. Fécondité moyenne (\pm écart-type) des femelles de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

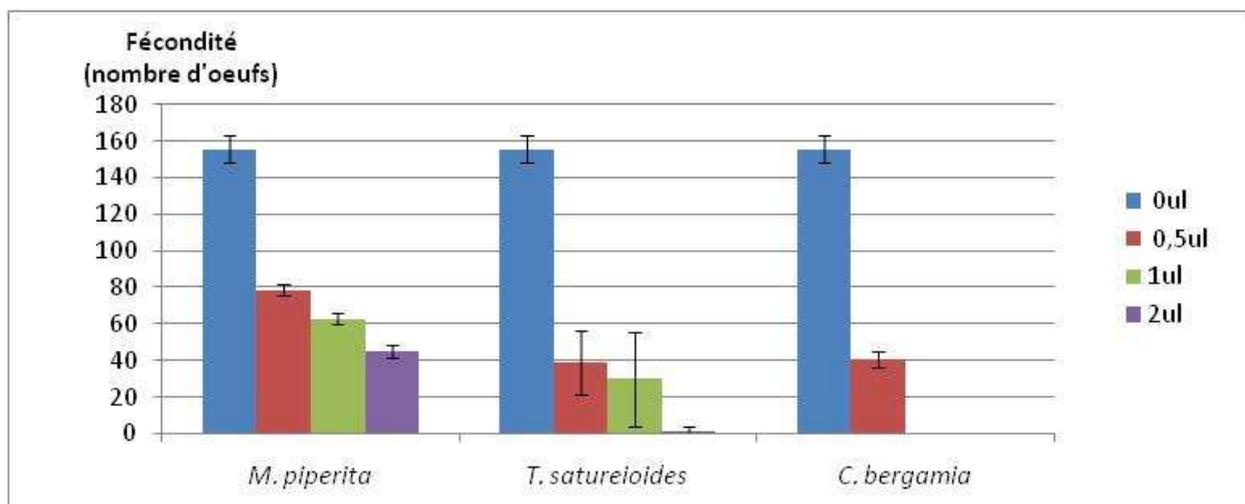


Figure 22. Fécondité moyenne (\pm écart-type) des femelles de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

L'analyse de la variance à un facteur de classification en fonction des doses des huiles a révélé des différences très hautement significatives entre les moyennes de fécondité ($P=0$) et

ce pour toutes les huiles utilisées montrant chacune des groupes homogènes (Annexes, Tab. 1 à 9).

L'analyse de la variance comparant les différentes huiles essentielles (Annexes, Tab. 10) montre des différences significatives ($P=0,014$) avec l'effet le plus toxique pour l'HE de laurier (groupe B) qui réduit la fécondité à 46,7 œufs/5femelles ; les HE de mandarinier et de citronnier (groupe A) ont manifesté la plus faible toxicité avec respectivement 99,65 et 106,9 œufs/5femelles. Parmi les huiles testées à des doses faibles, l'analyse statistique a révélé des différences significatives ($P=0,03$) indiquant la bergamote et le thym (groupe B) comme les plus toxiques par rapport à la menthe (groupe A) (Annexes, Tab. 12).

- **Etude de la fertilité des œufs**

La fertilité est le pourcentage d'œufs éclos par rapport aux œufs pondus par femelle. D'après les résultats présentés dans la figure 23, nous constatons que la fertilité maximale est enregistrée dans le lot témoin avec $77,73 \pm 1,57$ %. L'huile essentielle de laurier noble réduit nettement le taux de fertilité des œufs ($3,12 \pm 6,25\%$) dès la dose $6\mu\text{l}$ et les huiles de *C. limonum* et de *C. reticulata* et de l'*E. globulus* annulent complètement le taux de fertilité à la dose de $8\mu\text{l}$; les huiles de lavande et de cèdre réduisent moins la fertilité des femelles ; elle est de $28,47 \pm 24,25$ et $61,17 \pm 2,19\%$ respectivement à la plus forte dose ($8\mu\text{l}$).

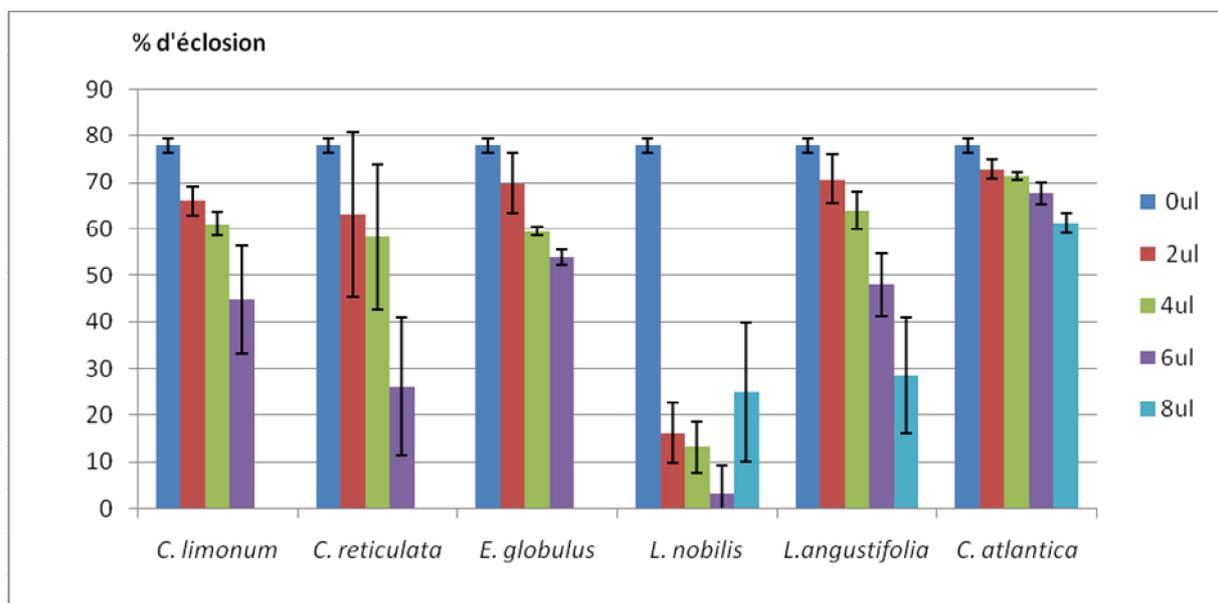


Figure 23. Taux d'éclosion moyen (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

Pour les huiles utilisées aux plus faibles doses, l'huile de bergamote s'est montrée la plus efficace en annulant le taux de fertilité dès la dose de 1 μ l. A la dose de 2 μ l, le thym et la menthe poivrée réduisent le taux de fertilité à 20,83 \pm 24,99 et 43,77 \pm 4,01% respectivement (Fig. 24).

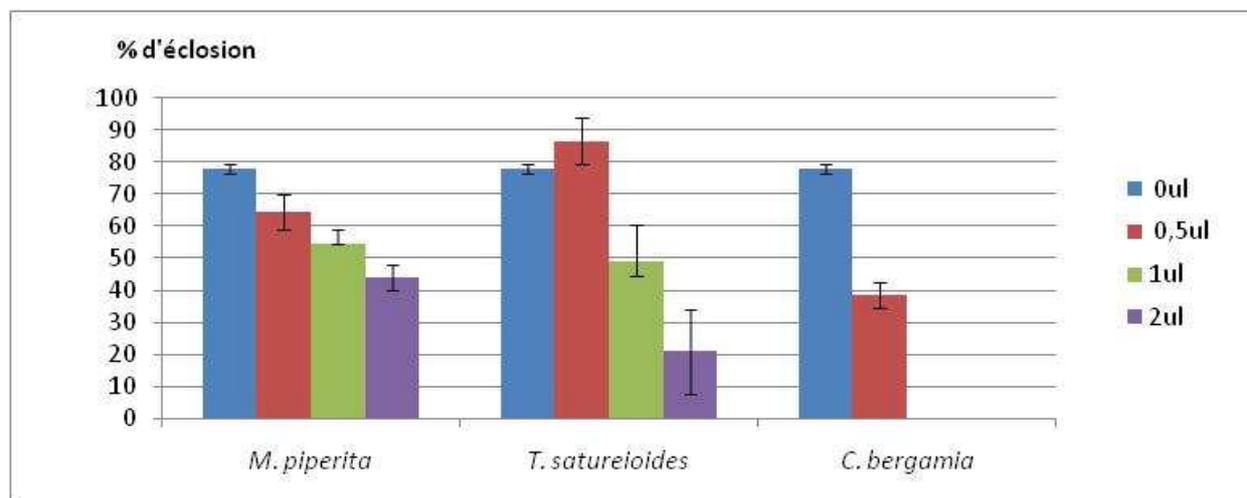


Figure 24. Taux d'éclosion moyen (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

L'analyse de la variance à un facteur de classification en fonction des doses des huiles a révélé des différences très hautement significatives entre les moyennes de fertilité ($P=0$) et ce pour toutes les huiles utilisées montrant chacune des groupes homogènes (Annexes).

L'analyse statistique comparative des HE (Annexes, Tab. 10) a montré des différences très hautement significatives ($P=0,0099$) avec le l'huile de laurier (groupe B) qui réduit la fertilité à un taux de 27,04% contre l'HE de cèdre et lavande (groupe A) (70,15%). Quant aux huiles de bergamote, thym et menthe, elles ne montrent pas de différences significatives pour la fertilité (Annexes, Tab.12).

- **Etude de la viabilité des œufs**

Les traitements aux huiles essentielles réduisent nettement le taux de viabilité par rapport au lot témoin où il est maximal (33,29 \pm 2,68) (Fig. 25). A 8 μ l, aucun adulte n'émerge en présence de toutes les huiles. L'huile de laurier noble réduit considérablement le taux de viabilité des œufs qui s'annule dès la dose de 4 μ l ; les huiles de mandarinier, citronnier, lavande et eucalyptus montrent des taux de survie les plus faibles montrant des valeurs respectives de 2,77 \pm 3,20 ; 6,19 \pm 5,15 ; 7,56 \pm 4,60 et 16,23 \pm 3,16 à la dose de 6 μ l. Notons que l'huile de cèdre, qui a montré un effet biocide relativement faible sur la longévité des

adultes et la fertilité des œufs en comparaison aux autres huiles, réduit fortement la viabilité des œufs à $2,50 \pm 2,26$ à la dose de $4 \mu\text{l}$.

L'huile de bergamote réduit le taux de survie à $10,51 \pm 0,89\%$ dès la plus faible dose utilisée ($0,5 \mu\text{l}$) et s'annule complètement à partir de $0,75 \mu\text{l}$ et celle de thym à $1,42 \pm 2,85\%$ dès la dose de $0,75 \mu\text{l}$ pour s'annuler à partir de $1 \mu\text{l}$ (Fig. 26).

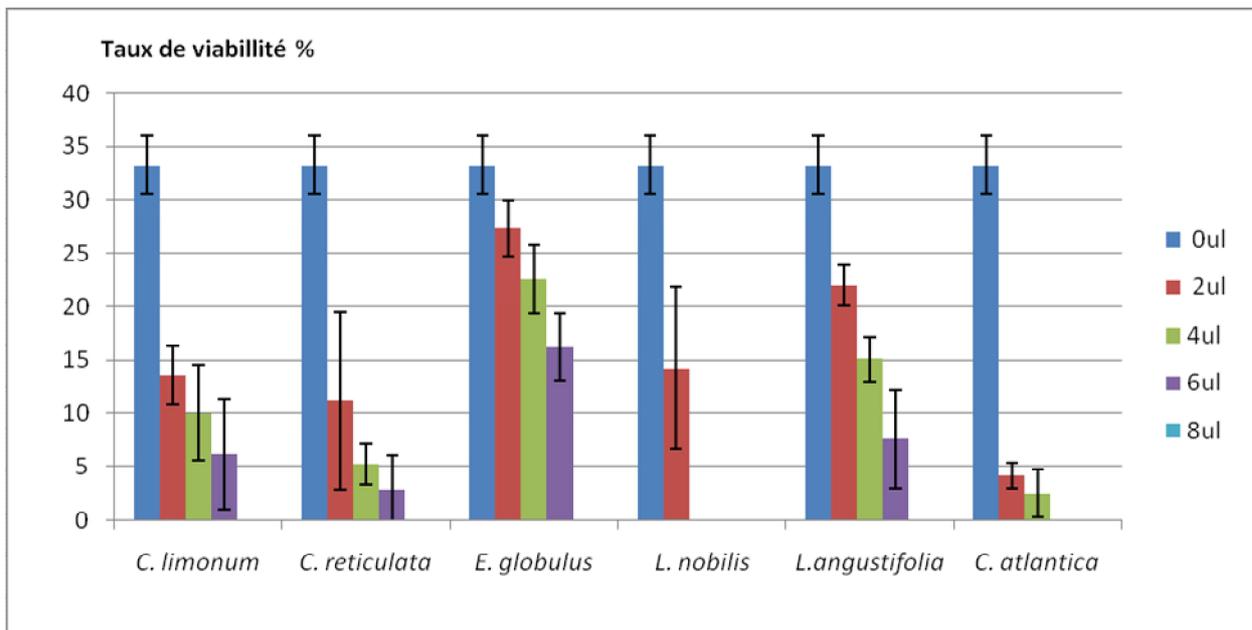


Figure 25. Taux moyen de viabilité (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

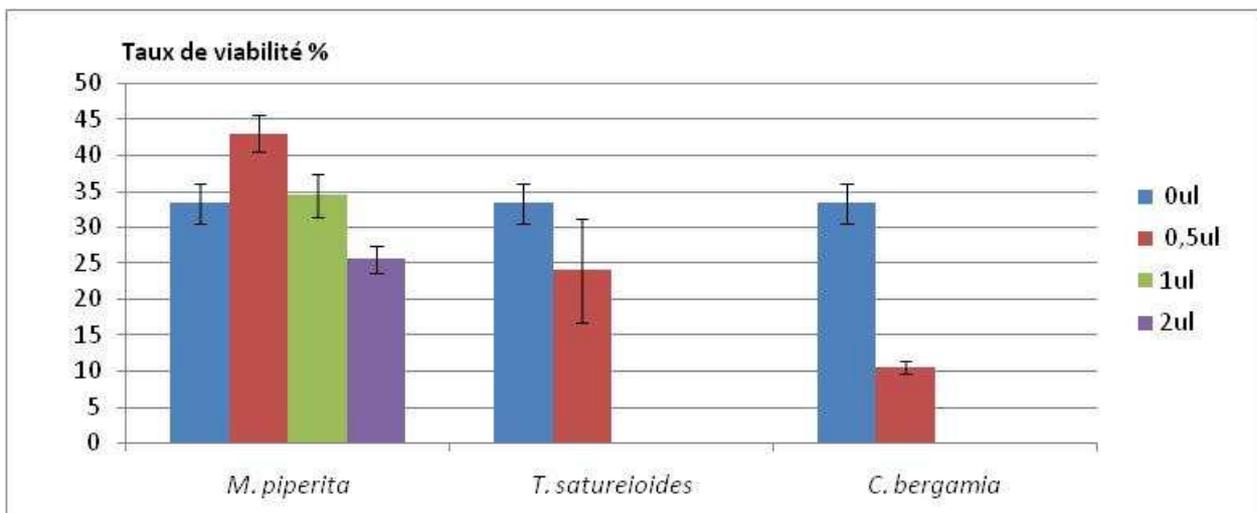


Figure 26. Taux moyen de viabilité (\pm écart-type) des oeufs de la bruche du haricot après traitement par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques.

L'analyse de la variance à un facteur de classification en fonction des doses des huiles a révélé des différences très hautement significatives entre les moyennes du taux de viabilité des œufs ($P=0$) et ce pour toutes les huiles utilisées montrant chacune des groupes homogènes (Annexes, Tab. 1 à 9). L'analyse de la variance à deux facteurs de classification a montré des différences hautement significatives ($P=0,0044$) entre les HE avec un effet toxique notable sur la viabilité des œufs notamment pour le cèdre, le laurier noble, le mandarinier et le citronnier (groupe B) ; contrairement l'HE d'eucalyptus s'est montrée la moins toxique (groupe A) (Annexes, Tab. 10). Des différences significatives ($P=0,025$) sont observées pour les huiles utilisées à faibles doses plaçant l'HE de menthe poivrée dans le groupe B et celles du thym et de bergamote, les plus toxiques, dans le groupe A (Annexes, Tab. 12).

3.1.2. Discussion

Neuf huiles essentielles extraites à partir des plantes méditerranéennes sont testées pour leurs effets insecticides à l'égard des adultes d'*A. obtectus*. Cette étude est réalisée à travers l'évaluation de l'effet létal sur des adultes (longévité) exposés aux différentes doses d'huiles et de l'effet sur leur reproduction (fécondité, fertilité et viabilité des œufs).

De nombreux travaux ont mis en évidence l'action des huiles essentielles sur la longévité des adultes d'espèces différentes de ravageurs des grains stockés. A cause de leur volatilité importante, les HE et leurs constituants, essentiellement des monoterpènes, exercent des effets insecticides et réduisent ou perturbent la croissance de l'insecte à différents stades de leur vie (Weaver et *al.*, 1991 ; Konstantopoulou et *al.*, 1992 ; Regnault-Roger et Hamraoui, 1994). Leurs efficacités varient en fonction du profil phytochimique des extraits des plantes et de la cible entomologique (Regnault-Roger et *al.*, 2012). Pour Regnault-Roger (2002), la bruche du haricot est plus sensible aux monoterpènes phénoliques et le puceron des céréales, *Rhopalosiphum padi* l'est aux monoterpènes métoxylés alors que la mouche méditerranéenne des fruits *C. capitata* est sensible aux deux types de produits.

Les HE que nous avons testé semblent avoir toutes un effet toxique sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*. Les plus efficaces restent les HE de *C. bergamia*, *T. satureioides*, *M. piperita* et *L. nobilis*. Par contre les HE les moins efficaces sur *A. obtectus* sont celles du citronnier *C. limon* et surtout du cèdre *C. atlantica*.

Des résultats similaires sont obtenus par Regnault-Roger et Hamraoui en 1994, qui ont testé l'efficacité des HE extraites de 24 plantes aromatiques sur *A. obtectus*. Ils ont montré que c'est surtout les HE de Lamiacées (*Thymus serpyllum*, *Origanum vulgare*, *Satureja hortensis*, *L. angustifolia*, *R. officinalis*, *Origanum majorana*, *Ocimum basilicum*) à côté

d'une Apiacée, le persil (*Petroselinum sativum*) qui sont les plus toxiques induisant une mortalité de 100% après 1 à 4 jours d'exposition à la dose de $10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$. Le même effet n'est observé qu'après 2 à 6 jours à la dose de $5.10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$ pour les HE de *T. vulgaris*, *Salvia officinalis*, *L. nobilis* et *Cinnamarrum verum* (Lauracées). Similairement à nos résultats, la même étude a révélé que l'HE de *C. limon* (Rutacée) est la moins toxique ne provoquant après 8 jours d'exposition, qu'une mortalité de 43% et 67% aux doses respectives de $10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$ et $5.10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$.

Righi-Assia (2010) a constaté que l'HE de thym (*T. vulgaris*) provoque une mortalité des adultes de *C. chinensis* après une heure d'exposition à une dose de 10 μl . Dans notre cas, une mortalité de 100% est obtenue après 72h d'exposition à la dose de 2 μl .

Les propriétés insecticides des HE testées sont proches de celles étudiées par d'autres auteurs. L'HE de la lavande a été appliquée avec succès sur *A. obtectus* (Papachristos et Stamopoulos, 2002 a, b, 2004) de même que celle du laurier (Shaaya et al., 1991 ; Karci et Isikber, 2007).

L'étude de Haubruge et al. (1989) sur l'action des huiles essentielles de Rutacées sur le charançon du maïs *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae), le grand capucin du maïs *Prostephanus truncatus* (Coleoptera, Bostrychidae) et le tribolium rouge de la farine *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) a révélé la toxicité la plus élevée pour l'huile essentielle de bigaradier, des résultats également rapportés par Hamdani (2012) sur les adultes d'*A. obtectus* qui ont manifesté une mortalité de 100% à 6 μl dès les premières heures d'exposition à l'huile essentielle de bigaradier.

Dans notre cas, comparée aux autres Rutacées (*C. limon* et *C. reticulata*), c'est l'HE de *C. bergamia* qui s'est montrée la plus toxique sur les adultes de la bruche du haricot ; très peu d'études ont investi l'action de cette huile sur les insectes inféodés aux grains stockés. Cependant, elle est bien connue pour son utilisation comme larvicide de la mouche domestique (Eleni et al., 2009). Cette huile est riche en furanocoumarines qui sont de bons synergistes ; ce sont des inhibiteurs bien établis des cytochromes P450 des insectes responsables de la phase I du métabolisme xénobiotique incluant les insecticides.

La richesse des HE de Rutacées en limonène (43,09%), en acétate de linalyl (24,82%) et en linalool (9,15%) explique leur action significative sur la longévité des adultes d'*A. obtectus* et d'autres ravageurs des céréales. En effet, le linalool qui est un des composés les plus toxiques sur *A. obtectus* agit aussi sur la bruche tropicale du pois *Z. subfasciatus* (Coleoptera, Bruchidae), la bruche du haricot (*A. obtectus*), le ravageur des céréales *Rhyzoperta dominica* (Coleoptera, Bostrychidae) et le charançon du riz *Sitophilus oryzae* (Coleoptera,

Curculionidae) montrant après 48h d'exposition des DL50 respectives de 428 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 405 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 428 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ et 427 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Weaver et al., 1991).

L'activité insecticide des HE de la famille des Poacées *Cymbopogon schoenanthus* et *C. nardus* et une Lamiacée *O. basilicum* a été explorée sur *C. maculatus* et ses hyménoptères parasitoïdes (Ketoh et al., 2002) de même que celles de giroflier (eugénol) (Kellouche, 2004).

En effet, les HE, mélanges monoterpéniques, sont des neurotoxiques agissant sur des cibles différentes en fonction de leurs natures chimiques. Par exemple, le linalool et l'estragol composés majeurs de l'HE d'*O. basilicum* perturbent l'activité neuronale au niveau des insectes. Ainsi le linalool provoque une réduction de l'amplitude et de la fréquence du potentiel d'action puis entraîne une diminution de la phase de post hyperpolarisation qui suit la transmission de l'influx nerveux alors que l'estragol induit plus spécifiquement une réduction de la phase de post hyperpolarisation ; l'action simultanée des deux composés provoque la paralysie puis la mort des insectes (Regnault-Roger et al., 2012).

Des espèces rares, peu nombreuses et d'accès difficile tels que le cèdre présentent des activités insecticides sur *A. obtectus* et sur de nombreux ravageurs. Généralement les HE de *Cedrus* contiennent des taux élevés d'himachalènes (Chaudhary et al., 2011). Il a été reporté que les HE de *C. atlantica* d'Algérie contient 67% d'himachalènes comme composé majeur (Boudarene et al., 2002) (celui du Maroc contient 70% d'himachalènes avec de très petites quantités d'atlantones alors que l'alpha pinène avec plus de 37% est communément présent dans l'huile essentielle des aiguilles (Chalchat et al., 1994).

Les travaux de Chaudhary et al. (2011) ont montré une bonne activité larvicide de l'HE du cèdre de l'Himalaya (*Cedrus deodora*) contre la teigne des crucifères (*Plutella xylostella* (Lepidoptera, Yponomeutidae)). Ils ont montré que la fraction pentane dont le constituant majeur est l'himachalène (52,35%) et l'atlantone (15,45%) s'est révélée la plus toxique avec une CL50 de 287 $\mu\text{g}/\text{ml}$ alors que l'HE à l'état brut présente une CL50 de 425 $\mu\text{g}/\text{ml}$; la fraction riche en himachalènes s'est montrée plus toxique (CL50 de 362 $\mu\text{g}/\text{ml}$) que celle qui est riche en atlantone (CL50 de 365 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ; d'où ces auteurs ont suggéré que ce sont ces composés majeurs qui sont responsables de l'action insecticide de cette HE avec un effet de synergie puisqu'ils ont observé que les fractions enrichies individuellement soit d'himachalènes ou d'atlantones sont moins toxiques que le mélange des deux sur les larves de la teigne des crucifères.

L'HE de *C. deodora* a montré une activité insecticide contre d'autres insectes tels que les charançons du haricot (*Callosobruchus analis*), le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*), la

mouche domestique (*Musca domestica*) et la bruche chinoise (*C. chinensis*) (Singh et Agarwal, 1988 ; Raguraman et Singh, 1997). La reproduction des insectes est également affectée par les HE qui agissent soit précocement aux premiers stades de développement ou encore aux stades ultimes.

L'effet létal adulticide et l'effet inhibiteur de la reproduction des HE ne se superposent pas toujours. Si les HE de bergamote, thym, menthe poivrée et le laurier noble ont manifesté un effet létal considérable sur les adultes d'*A. obtectus*, celles de laurier, *E. globulus*, mandarinier lavande et du cèdre ont surtout réduit la fécondité dans un ordre décroissant. D'ailleurs, les agriculteurs ont sélectionné de façon empirique la menthe poivrée (*M. piperita* L.) et le laurier (*L. nobilis*) qui agissent sur la reproduction en réduisant la fécondité des femelles d'*A. obtectus* dans les sacs de grains de haricots en région méditerranéenne (Regnault-Roger et al., 2012).

En dehors de l'huile de cèdre, ces HE contiennent en proportions importantes du 1,8-cinéole (eucalyptol) notamment le laurier (34,62%), eucalyptus (82,42%) et dans un degré moindre la lavande (1%). Le 1,8-cinéole et le terpinen-4-ol présents dans les HE d'*E. globulus*, *L. nobilis* et *Origanum majorana* inhibent l'acétylcholinestérase (Regnault-Roger et al., 1993 ; Mills et al., 2004) montrant que l'activité insecticide des monoterpènes contenus dans les HE peut être due à plusieurs mécanismes qui affectent des cibles multiples en perturbant, plus efficacement, l'activité cellulaire et les processus biologiques des insectes (Regnault-Roger et al., 2012).

Souvent, les HE les plus toxiques sur les adultes d'*A. obtectus* sont également les plus inhibitrices de la reproduction ; la réduction de la fécondité des femelles résulte de la réduction de la longévité des adultes.

Bouchikhi Tani et al. (2008) ont constaté que la ponte chez les femelles de *A. obtectus* est complètement inhibée dans les graines de haricot traitées par les huiles essentielles de *R. officinalis* et *A. herba-alba* à une dose supérieure ou égale à 5µl/30g de graines. Bouchikhi Tani (2011) a montré que les huiles les plus toxiques sur les adultes d'*A. obtectus* (*Mentha pulegium*, *A. herba-alba*, *Origanum glandulosum* et *R. officinalis*) sont aussi les plus efficaces sur la ponte des femelles à l'exception de l'huile de *Thymus capitatus* qui provoque une forte réduction de la fécondité malgré sa faible toxicité.

Dans notre cas, c'est l'huile essentielle de *C. atlantica* qui a manifesté l'effet le plus toxique sur la viabilité des œufs alors qu'elle est la moins toxique sur les adultes d'*A. obtectus*.

La toxicité via-à-vis d'*A. obtectus* des HE de 13 plantes aromatiques (*Apium graveolens*, *Citrus sinensis*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus oxycedrus*, *Laurus nobilis*, *Lavandula hybrida*, *Mentha microphylla*, *Mentha viridis*, *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare*, *Pistacia terebenthus*, *Rosmarinus officinalis* et *Thuja orientalis*) étudiée par Papachristos et Stamopoulos (2002a) a montré que les HE *M. viridis*, *M. microphylla*, *E. globulus*, *R. officinalis* et *L. hybrida* réduisent fortement la fécondité des femelles de *A. obtectus*. Cette réduction serait due à des taux de rétention des œufs élevés plutôt qu'à une réduction de la production totale des œufs ; en effet, en présence de ces HE, les pourcentages des œufs retenus dans les oviductes latéraux des femelles étaient élevés. Les mêmes auteurs ont enregistré une réduction significative des taux d'éclosion des œufs en présence des HE *E. globulus* et *O. vulgare*.

L'application de 25µl d'huiles essentielles d'*Eucalyptus lehmani*, *E. astringens*, *E. maidinii* et *E. cinerea* par 50g de graines de niébé a donné 100% de mortalité des adultes de *C. maculatus* en moins de 24h avec des taux de survie embryonnaires et post-embryonnaires nuls et cela sans affecter la faculté germinative des graines traitées (Hedjal-Chebheb, 2014).

L'effet des HE sur la reproduction est le résultat à la fois d'une inhibition de l'oogenèse et au même temps de l'augmentation de la rétention des œufs dans les oviductes latéraux des femelles d'*A. obtectus*. En effet, Huignard (1969) et Pouzat (1978) ont montré que des modifications dans l'environnement des sites de ponte peuvent conduire au blocage de l'oogenèse et à la rétention des œufs dans les oviductes ; ainsi les HE, par leurs substances volatiles, pourraient masquer l'action des odeurs stimulatrices émises par les graines de haricot.

L'action des HE varie en fonction des stades de développement de la bruche du haricot. Papachristos et Stamopoulos (2004) ont exposé des œufs d'*A. obtectus* aux HE de *L. hybrida*, *R. officinalis* et *E. globulus* et ont remarqué que les stades les plus tolérants sont les œufs et les plus sensibles sont les larves du 3^{ème} stade et que parmi les œufs, les plus jeunes (inférieur ou égal à 3 jours) sont plus tolérants que les plus âgés (≥ 4 jours). Les auteurs ont suggéré que cette résistance est expliquée par l'activité ovicide visible uniquement lorsque le système nerveux de l'embryon commence à se développer sachant que les monoterpènes présents dans les HE sont neurotoxiques ; de même, la perméabilité de la surface externe des œufs (chorion et/ou membrane vitelline) qui est faible au début de l'embryogénèse obstrue la diffusion de vapeurs à l'intérieur des œufs jeunes.

Par ailleurs, Emecki et *al.* (2002) cité par Stamopoulos et *al.* (2007) suggère que l'intensité respiratoire est très faible au stade œuf par rapport aux autres stades actifs de *Tribolium confusum* ; il y aurait un faible taux d'échange d'air d'où une faible diffusion des monoterpènes à l'intérieur des œufs. Des résultats similaires sont observés par Stamopoulos et *al.* (2007) sur les œufs de *T. confusum* qui ont souligné que la susceptibilité aux vapeurs des huiles essentielles varie en fonction de l'âge des stades larvaires où les larves les plus âgées résistent mieux et peuvent tolérer de fortes concentrations d'huile essentielle alors que le stade nymphal est sensible. Ceci s'expliquerait probablement par la taille des larves plutôt que par une différence dans le mode d'action de l'huile.

Bien que nous n'avons pas étudié l'activité insecticide des HE sur les stades larvaires (stades cachés) d'*A. obtectus*, cet effet est très visible à travers les émergences (viabilité) des adultes notamment pour les HE de *C. atlantica* 7,97%, *L. nobilis* 9,50%, *C. reticulata* 10,48% et *C. limon* 12,61%. Nous pouvons suggérer aussi que les stades larvaires seraient moins sensibles du fait que les substances volatiles des HE ne diffusent pas suffisamment à l'intérieur des graines tandis que les nymphes sont logées à la périphérie des graines avec un opercule déjà préparé.

La réduction de la fécondité d'*A. obtectus* par les HE de 24 plantes aromatiques est déjà rapportée par Regnault-Roger et Hamraoui (1994, 1995) ; ils ont observé que les HE de *T. vulgaris* (Lamiacées) et de *Cinnamomum verum* (Lauracées) diminuent efficacement la ponte des femelles à partir de la dose de $10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$; celles de *R. officinalis* et *T. serpyllum* inhibent complètement la ponte d'*A. obtectus* dès la plus faible dose ($10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$). Les autres HE (*Satureia hortensis*, *Lavandula angustifolia*, *Origanum majorana*, *Ocimum basilicum*) n'inhibent la ponte qu'à partir de la dose de $5 \cdot 10^{-2} \mu\text{l}/\text{cm}^3$. Parallèlement, l'HE de *C. limon* reste peu efficace sur la ponte des femelles comme nous l'avons également observé pour les HE de mandarinier et de citronnier que nous avons testé. Par contre, l'HE de bergamote s'est montrée fortement réductrice des pontes d'*A. obtectus*.

Selon Regnault-Roger et *al.* (2002), le carvacrol, le linalool, le thymol, le terpinéol et l'eugénol inhibent complètement l'émergence des adultes d'*A. obtectus* et les HE de *T. vulgaris*, *T. serpyllum*, *Cinnamomum verum*, *R. officinalis*, *O. basilicum* et *Petroselinum sativum* affectent considérablement le taux de viabilité des adultes d'*A. obtectus*.

Aussi, Kellouche (2005) a montré que l'huile de clous de girofle *Syzygium aromaticum* (Myrtacées), affecte de manière très hautement significative la fécondité de *C. maculatus*, elle est de 00 ± 00 œufs/10 femelles à la dose de $5 \mu\text{l}$ alors qu'elle est de $1134 \pm 204,2$ œufs/10 femelles dans les lots témoins.

L'application de poudres de kaolin aromatisées par les HE de *Tagetes minuta* (Composées), *Hyptis suaveolens*, *O. basilicum* et *O. canum* (Lamiacées) et de *Piper guineense* (Piperacées) n'exerce pas un effet significatif sur l'éclosion des œufs de *C. maculatus*, par contre elle présente un impact significatif sur les émergences des adultes avec un taux de 0% contre 100% dans les lots témoins (Kéita et al., 2000). Du kaolin aromatisé par l'huile essentielle de *Thuja occidentalis* s'est montré encore plus toxique que celui imprégné d'HE d'*O. basilicum* (DL50= 65 $\mu\text{L g}^{-1}$) et d'*O. gratissimum* (DL50= 116 $\mu\text{L g}^{-1}$) manifestant des DL50 respectives de 18,69 $\mu\text{L g}^{-1}$ et de 32,58 $\mu\text{L g}^{-1}$ pour les mâles et les femelles de *C. maculatus* indiquant une sensibilité marquée des mâles par rapport aux femelles (Kéita et al., 2001a,b).

3.2. Action sur les caractéristiques de la graine

3.2.1. Résultats

• Etude de la perte en poids des graines

Les figures 27 et 28 montrent que l'utilisation des différentes huiles essentielles réduit considérablement les pertes en poids des graines du haricot au fur et à mesure que les doses augmentent.

En effet, les pertes en poids maximales sont enregistrées dans les lots témoins non traités (31,83±1,36%) ; ces pertes se réduisent à 1,47±0,26% pour le cèdre et s'annulent complètement pour le reste des huiles à la plus forte dose (8 μl). Elles sont proportionnelles au nombre d'adultes émergents des graines.

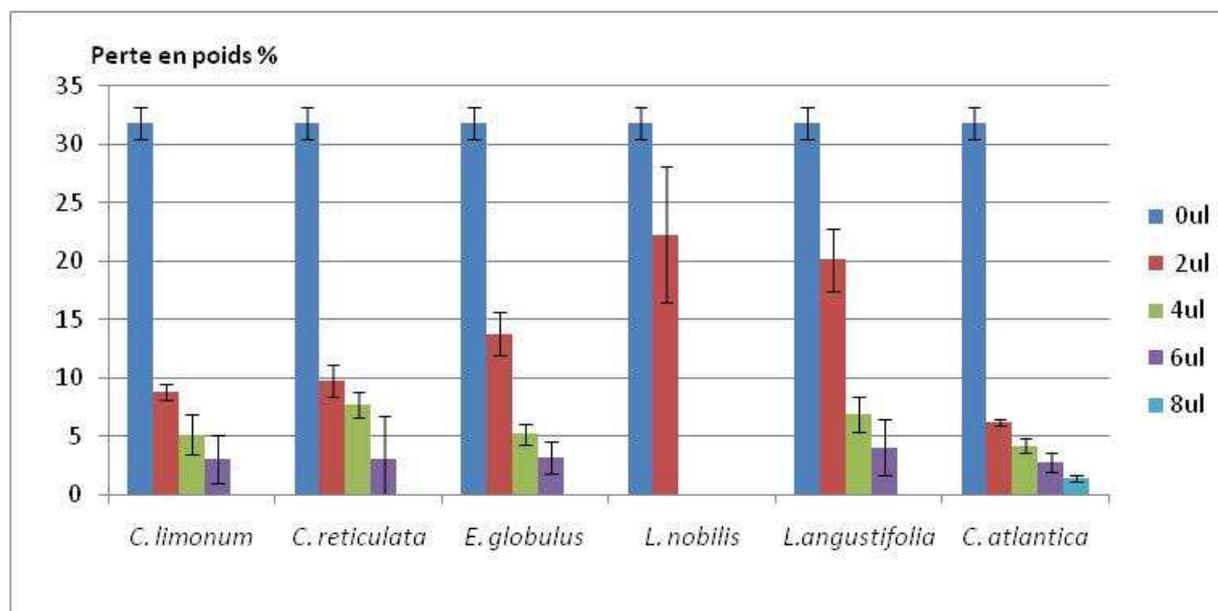


Figure 27. Perte moyenne en poids (%) (\pm écart-type) des graines du haricot traitées par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques contre *A. obtectus*.

Dès la dose de 1 μ l, la perte en poids des graines s'annule en présence de l'huile de bergamote alors quelle est de 10,5 \pm 1,91% et 2,2 \pm 0,69% pour la menthe poivrée et le thym respectivement.

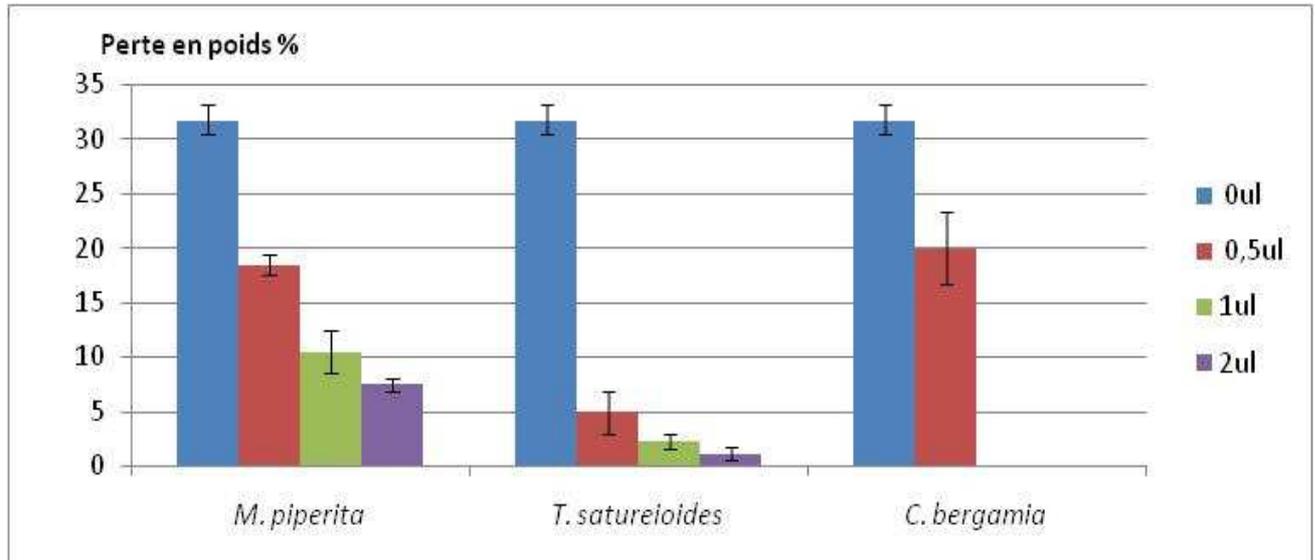


Figure 28. Perte moyenne en poids (%) (\pm écart-type) des graines de haricot traitées par contact aux huiles essentielles des plantes aromatiques contre *A. obtectus*.

L'analyse de la variance à un facteur de classification en fonction des doses des huiles a révélé des différences très hautement significatives entre les moyennes du taux de perte en poids des graines ($P=0$) et ce pour toutes les huiles utilisées montrant chacune des groupes homogènes (Annexes, Tab. 1 à 9).

L'analyse statistique comparant les huiles n'a pas révélé des différences significatives pour l'action des huiles sur la perte en poids des graines ($P=0,73$ et $P=0,18$) qui reste similaire quelque soit l'huile essentielle utilisée (Annexes, Tab.11 et 12).

- **Etude de la faculté germinative des graines**

La figure 29 montre que la faculté germinative des graines de haricot est fortement réduite au niveau du lot témoin non traité par les huiles (11,69 \pm 1,41%) alors qu'elle augmente au fur et mesure que les doses augmentent pour toutes les huiles essentielles testées. Ce

paramètre est directement lié au nombre de larves qui se nourrissent des réserves des cotylédons et des adultes qui émergent des graines à travers les trous de sorties.

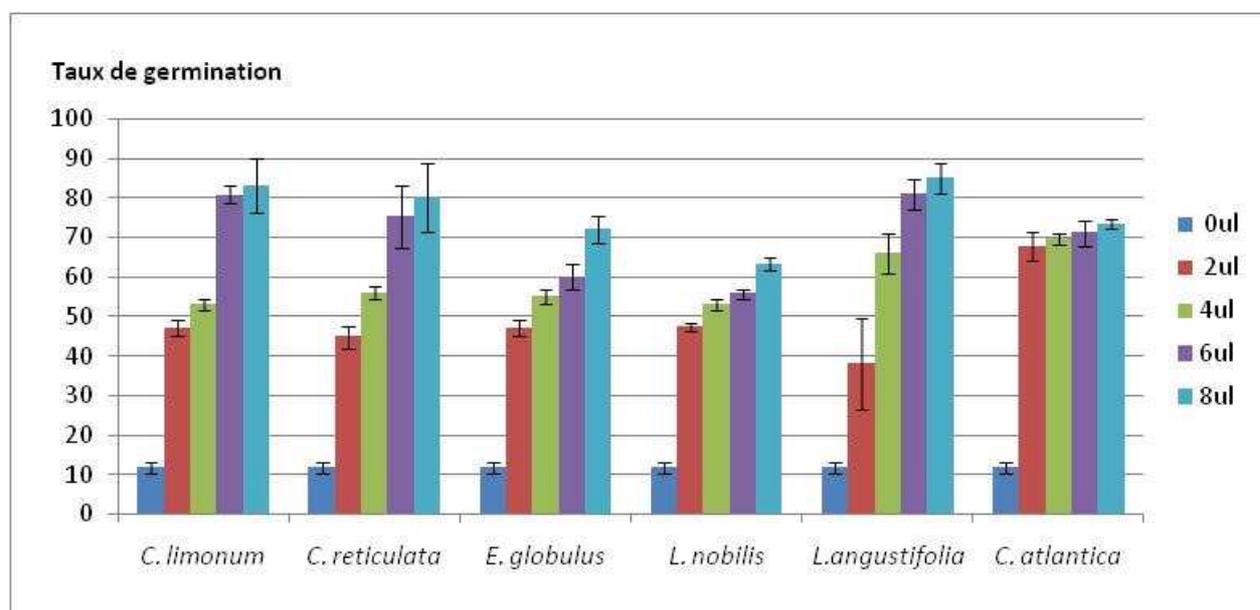


Figure 29. Taux moyen de germination (%) (\pm écart-type) des graines du haricot traitées par contact à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques contre *A. obtectus*.

A la plus forte dose (8 μ l), les huiles de lavande, citronnier et mandarinier permettent la meilleure protection du pouvoir germinatif des graines dont les taux sont respectivement de 85 \pm 3,82 ; 83 \pm 6,83 et 80 \pm 8,64%. Les graines traitées aux huiles de cèdre, d'eucalyptus et de laurier noble montrent des taux de germination de 73,42 \pm 1,30, 72 \pm 3,26 et 63,25 \pm 1,5% respectivement. Avec des doses beaucoup plus faibles, les HE de menthe poivrée, de thym et de bergamote ont également protégé le pouvoir germinatif des graines au fur et à mesure que les doses augmentent (Fig. 30). A la dose de 2 μ l, les graines traitées aux huiles de thym, bergamote et menthe poivrée montrent des taux de germination respectifs de 97 \pm 2 ; 94,25 \pm 0,95 et 79,24 \pm 3,01%.

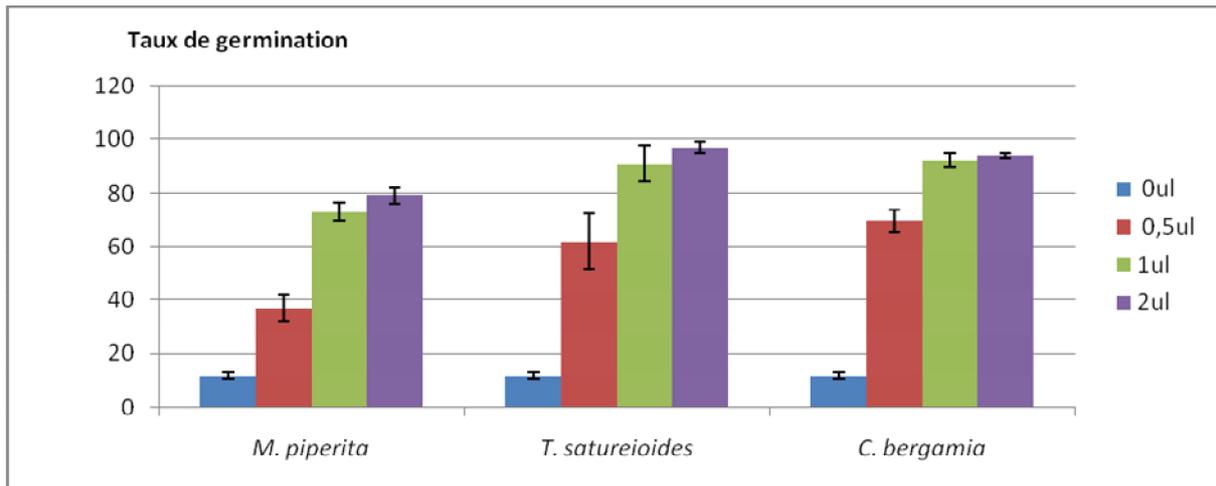


Figure 30. Taux moyen de germination (%) (\pm écart-type) des graines du haricot traitées par contact à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques contre *A. obtectus*.

L'analyse de la variance à un facteur de classification en fonction des doses des huiles a révélé des différences très hautement significatives entre les moyennes du taux de germination des graines de haricot ($P=0$) et ce pour toutes les huiles utilisées montrant chacune des groupes homogènes (Annexes, Tab. 1 à 9).

L'analyse de la variance comparant les six huiles essentielles ne montre pas de différences significatives ($P=0,12$) entre la faculté germinative des graines de haricot traitées (Annexes, Tab. 11). Par contre, l'analyse statistique comparative des huiles utilisées à faible doses révèle des différences significatives ($P= 0,031$) avec un effet protecteur supérieur de l'HE de bergamote (67,01%) et du thym (65,42%) contre 50,26% pour la menthe (Annexes, Tab. 12).

3.2.2. Discussion

En l'absence de traitements insecticides contre la bruche du haricot par les extraits des plantes aromatiques, les graines de haricot subissent des pertes aussi bien quantitatives (perte pondérale) que qualitatives (valeur nutritive et pouvoir germinatif). Au niveau des lots témoins non traités, la perte pondérale est très visible à travers une réduction du poids et du volume des grains attaqués suite au développement de plusieurs larves à l'intérieur. Les attaques de bruches se traduisent également par la diminution de la capacité germinative des graines.

Il ressort globalement que le traitement par les huiles essentielles des différentes plantes aromatiques protègent les graines de haricot ; ainsi, les pourcentages des pertes pondérales diminuent au fur et à mesure que la dose augmente pour presque s'annuler aux plus fortes

doses quelque soit l'huile utilisée. Les pertes pondérales les plus élevées sont enregistrées au niveau du lot témoin non traité ($31,83 \pm 1,36\%$) alors qu'elles s'annulent dès la dose de $1\mu\text{l}$ de l'HE de bergamote ; cependant, l'analyse statistique n'a pas montré de différences significatives pour les différentes huiles testées et l'action des huiles sur la perte en poids est similaire.

Concernant la faculté germinative des graines, des différences significatives sont enregistrées uniquement pour les huiles testées avec des doses faibles classant en première position la bergamote (67,01%) et le thym (65,42%) et en deuxième position la menthe (50,26%). Les pourcentages de germinations observés aux fortes doses ($2\mu\text{l}$ ou $8\mu\text{l}$) sont proches de ceux obtenus sur des graines saines (environ 90%).

Des observations similaires sur *A. obtectus* sont rapportées par Hamdani (2012) où il a montré que les HE de Rutacées (*C. limonum*, *C. sinensis*, *C. paradisi* et *C. aurantium*) diminuent la perte en poids des graines de haricot à 1,5g, 2,5g, 1,75g et 00 g respectivement à la dose de $4\mu\text{l}$ et l'annule complètement à partir de $8\mu\text{l}$. Parallèlement, le même auteur a enregistré des taux de germination des graines supérieurs à 90% à partir de la dose de $4\mu\text{l}$ de l'huile essentielle de bigaradier et supérieur à 80% pour les autres huiles essentielles testées alors que la capacité germinative est inférieure à 10% dans les lots témoins non traités.

Raja et al. (2001) ont mis en évidence l'effet des traitements par contact par les HE de *M. piperita*, *M. arvensis*, *M. spicata* et *Cymbopogon nardus* sur les adultes de *C. maculatus* sur une durée de quatre mois. Ils ont montré que les substances volatiles des HE, en réduisant significativement la fécondité, la fertilité et le taux d'émergence des adultes, elles réduisent aussi significativement les dommages engendrées aux graines.

Pour sa part, Aiboud (2011) a traité les graines de niébé contre *C. maculatus* avec les HE extraites de *Myrtus communis*, *T. vulgris*, *O. vulgare*, *Eucalyptus smithii*, *Pimenta racemosa*, *O. basilicum* et *Ssygyzium aromatica* et a démontré qu'elles ont une activité très hautement significatives sur la réduction des pertes en poids des graines en constatant que la faculté germinative des graines traitées aux fortes doses est très élevée, étant donné que l'émergence des adultes de *C. maculatus* est faible.

4. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles par répulsion

4.1. Résultats

Les résultats du test de répulsion sont consignés dans le tableau 15. Globalement les huiles se sont montrées répulsives à l'égard des adultes d'*A. obtectus* même à la plus faible

dose (10µl). L'activité répulsive des huiles étudiées, après une durée d'exposition de 30 minutes, est donc dépendante de la dose ; elle augmente au fur et à mesure que les concentrations de l'HE augmentent variant entre 60% et 100% à la dose de 80µl.

L'analyse de la variance a montré des différences hautement significatives pour toutes les HE sauf pour les HE d'eucalyptus et de menthe poivrée où les différences sont significatives (P=0,041) et non significatives respectivement (P=0,63).

Le calcul du pourcentage de répulsion par la méthode de Mc Donald et *al.* (1970) permet de constater que les HE de *L. nobilis*, *M. piperita*, *L. angustifolia*, *C. reticulata* et *C. bergamia* sont répulsives avec des taux respectifs de 73,75%, 71,25%, 63,75%, 63,75% et 61,87% et les HE de *T. saturioides* (53,75%), *E. globulus* (51,25%) et *C. limonum* (43,75 %) sont moyennement répulsives. L'HE de *C. atlantica* est modérément répulsive montrant le pourcentage de répulsion le plus faible (31,25%).

Tableau 15. Taux moyens de répulsion des huiles essentielles des plantes aromatiques contre les adultes de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*) et leur classement selon la méthode de Mc Donalds et *al.* (1970).

Huiles essentielles	10µl	30µl	60µl	80µl	Valeur de probabilité é (P)	% PR moyen	Classe
<i>L. nobilis</i>	60±8,16c	65±5,77c	75±5,77b	95±00a	0,00001** *	73,75	Répulsive (IV)
<i>M. piperita</i>	50±16,32	70±19,14	80±18,29	85±16,34	0,636 NS	71,25	Répulsive (IV)
<i>L. angustifolia</i>	30±11,54c	60±16,32b	75±10ab	90±11,54a	0,00017***	63,75	Répulsive (IV)
<i>C. reticulata</i>	40±8,16c	35±5,77c	80±8,16b	100±00a	0,00***	63,75	Répulsive (IV)
<i>C. bergamia</i>	30±19,1b	45±16,14b	85±23,09a	87,5±11,5a	0,00***	61,87	Répulsive (IV)
<i>T. saturioides</i>	10±00b	30±11,5b	80±16,3a	95±10a	0,00001***	53,75	Moyennement répulsive (III)
<i>E. globulus</i>	20±19,14b	50±25,81ab	60±19,14ab	75±25,16a	0,041*	51,25	Moyennement répulsive (III)
<i>C. limonum</i>	10±4,08d	45±5,77c	55±5,77b	65±5,77a	0,00***	43,75	Moyennement répulsive (III)
<i>C. atlantica</i>	15±12,24b	20±8,16b	30±8,16b	60±8,16a	0,00011***	31,25	Modérément répulsive (II)

Toutes les expériences sont répétées 4fois. P : différences significatives déterminées par une anova à un critère de classification. Dans chaque ligne du tableau, les valeurs suivies d'une même lettre ne diffèrent pas significativement entre elles à P=0.05 (test de Newman et Keuls).

4.2. Discussion

La présente étude montre que les HE des plantes aromatiques sont efficaces dans la protection des grains de haricot contre les attaques d'*A. obtectus*. Elles montrent des variations significatives de leurs activités répulsives qui dépendraient de plusieurs facteurs notamment la composition chimique de ces huiles. La supériorité du potentiel insecticide répulsif de l'HE de laurier (73,75%) et de la menthe poivrée (71,25%) contre *A. obtectus* pourrait être attribué aux quantités élevées des composés majoritaires : le 1,8-cineole (34,62%) et le linalool (12,57%) chez la première et du menthol et menthone chez la seconde.

Dans ce contexte, Papachristos et Stamopoulos (2002a) ont montré que sur les HE de 13 plantes aromatiques, cinq d'entre elles (*M. viridis*, *E. globulus*, *M. microphylla*, *R. officinalis* et *L. hybrida*) ont manifesté des effets répulsifs importants contre trois HE (*Thuja orientalis*, *C. sinensis* et *P. terebinthus*) n'ont pas révélé une telle activité. Ces auteurs ont remarqué que les HE les plus toxiques exhibent au même temps des effets répulsifs et inhibiteurs de la reproduction de la bruche du haricot.

Les travaux similaires réalisés par Hamdani (2012) sur l'effet répulsif des HE de 4 espèces de Rutacées à l'égard des adultes d'*A. obtectus*, ont montré que l'HE de bigaradier est la plus répulsive (PR=70% calculée selon la méthode de Mc Donald et al. (1970)) et celles de citronnier (PR=50%) et pamplemoussier (42,5%) sont modérément répulsives ; l'HE de l'oranger (PR=17,5%) s'est montrée très faiblement répulsive. Dans notre cas, une valeur comparable du pourcentage de répulsion est enregistrée pour l'HE de citronnier (43,75%) alors que le bergamotier, parmi les Rutacées, a exhibé une forte activité répulsive de l'ordre de 61,87%.

Ayant utilisé la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par Mc Donald et al. (1970), Ndomo et al. (2009) ont rapporté que les HE des feuilles de *Callistemon viminalis* (Amaranthacées) aux doses variant de 0,031 à 0,25 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ induisent des taux de répulsion de 36,6 à 80% vis-à-vis des adultes d'*A. obtectus* qui sont proportionnels aux doses utilisées.

Sur une bruche polyvoltine voisine, *C. maculatus*, Tapondjou et al. (2003) ont également mis en évidence les propriétés répulsives élevées sur les adultes de l'HE des feuilles de *C. ambrosioides* L. (Chenopodiacees) (PR=89%) par comparaison à celle des feuilles d'*Eucalyptus saligna* Smith (Myrtacées) (PR=71%). Pour leur part, Kumar et al. (2009) ont observé un taux de répulsion de l'HE de *Mentha longifolia* (Lamiacées) de 85% contre les adultes de la bruche chinoise (*C. chinensis*). Aggarwal et al. (2001) ont noté l'effet

répulsif du composé majoritaire de la menthe poivrée, le menthol, de 100% des adultes de *C. maculatus* à la dose de 20µg par 1ml d'acétone sur papier filtre.

D'autres ravageurs des denrées stockées ont fait l'objet d'études similaires. Nerio et al. (2009) ont évalué l'effet répulsif de 7 HE par la méthode des choix multiples vis-à-vis de *S. zeamais* (Coleoptera, Curculionidae) ; ils ont montré un effet répulsif (%) marqué pour l'HE de *Lippia origanoides* (Verbenacées), *Eucalyptus citriodora* (Myrtacées) et *Tagetes lucida* (Astéracées) à des doses variant entre 0,063 et 0,503 ml/cm².

Les travaux de Mediouni Benjemâa et al. (2012) sur les propriétés répulsives de l'HE de *L. nobilis* de différentes provenances (Algérie, Tunisie et Maroc) ont montré une activité répulsive significative, après une durée d'exposition de 1heure, sur les adultes de *R. dominica* et *T. castaneum* même à des doses faibles de 0,04µl/cm². L'HE de provenance marocaine a montré un pourcentage de répulsion de 87,5% contre 62,5% et 57,5% respectivement pour les provenances tunisienne et algérienne. Le pouvoir répulsif est hautement dépendant de la concentration et de la durée d'exposition et pourrait être attribué à des taux élevés des composés majoritaires : le 1,8-cinéole (38,86%), isovaleraldehyde (10,47%) et linalool (9,45%) présent également dans l'HE de laurier que nous avons étudié.

Odeyemi et al. (2008) ont noté un taux de répulsion de 100% de l'HE de *Mentha longifolia* contre *S. zeamais*. Aggarwal et al. (2001), pour leur part, ont évalué l'activité répulsive du L-menthol et de ses dérivés acyl contre *C. maculatus*, *T. castaneum*, *S. oryzae* et *R. dominica* et ont rapporté des taux de répulsion respectifs de 100%, 82%, 78% et 72% à une concentration de 20µg par ml.

Il ressort globalement de ces essais de zone préférentielle sur papier filtre que les HE de laurier et de menthe poivrée avec un taux de répulsion 70%, pourraient constituer un moyen de lutte contre la bruche du haricot dans les stocks. Les substances répulsives agissent localement ou à distance empêchant un insecte (généralement les arthropodes) de voler, atterrir sur ou piquer la peau d'un animal ou de l'Homme (Blackwell et al., 2003 ; Nerio et al., 2010).

Les plantes aromatiques et leurs HE agissent par répulsion en émettant des substances volatiles (terpènes) qui constituent une barrière empêchant les insectes et les autres arthropodes de se mettre en contact avec la surface de l'hôte (Brown et Herbert, 1997). D'ailleurs les effets répulsifs relativement élevés des HE de nombreuses espèces de menthe, notamment *M. piperita*, ont fait l'objet d'études contre d'autres insectes notamment les vecteurs de maladies tels que l'anophele (*Anopheles annularis*) avec 100% de répulsion à une dose de 1ml d'HE de *M. piperita* appliqué sur la peau de l'Homme (Ansari et al., 2000 ;

Kumar et *al.*, 2011a) et 86% de répulsion à une dose de 86µg/cm² contre la mouche domestique (*Musca domestica*) (Kumar et *al.*, 2011b).

5. Etude de l'effet biocide des huiles essentielles par inhalation

5.1. Résultats

D'après les résultats présentés dans les figures 31 et 32, les taux de mortalité des adultes d'*A. obtectus* augmentent en fonction des doses d'huiles utilisées et de la durée d'exposition par inhalation. Les huiles essentielles utilisées aux doses de 0 ; 10 ; 30; 60 et 80µl / 1litre de volume d'air (Fig. 31) ont montré des taux de mortalité les plus élevés pour la menthe poivrée et la lavande (Lamiacées) ainsi que pour l'eucalyptus (Myrtacées) ; une mortalité moyenne de 100% est enregistrée dès la plus faible dose (10µl) après une durée d'exposition de 72 heures. Quant aux huiles de citronnier, mandarinier et cèdre, le taux de mortalité maximal enregistré est d'environ 80% obtenu après 96 heures d'exposition à la dose de 80µl d'huile essentielle.

Les huiles essentielles de bergamote, thym et laurier ont montré un effet biocide par inhalation plus important sur la bruche du haricot. En effet, des doses plus faibles de 10, 20, 30 et 40µl/ 1litre de volume d'air (Fig. 32) ont engendré des taux de mortalités de 100% à la plus forte dose utilisée (40µl) après 96 heures d'exposition. Une mortalité totale est enregistrée pour le thym à la dose de 10µl après 72 heures d'exposition.

L'analyse de la variance pour les huiles utilisées aux doses allant de 0 à 40µl, a montré des différences très hautement significatives (P=0) pour les facteurs huile, dose, durée d'exposition et pour l'interaction huile-dose et une différence significative pour l'interaction huile-durée d'exposition classant chaque huile dans un groupe de la plus toxique à la moins toxique : le thym, la bergamote et le laurier (Annexes, Tab. 13 à 17).

L'analyse de la variance à trois facteurs (huile, dose et durée d'exposition) pour les huiles testées aux doses allant de 0 à 80µl, a révélé des différences très hautement significatives (P=0) pour les trois facteurs et des différences significatives (P=0,026) pour l'interaction dose-durée d'exposition. Le test de Newman et Keuls classe la menthe poivrée, la lavande l'eucalyptus dans le groupe A et le cèdre, le citronnier et le mandarinier dans le groupe B (Annexes, Tab. 18 à 22).

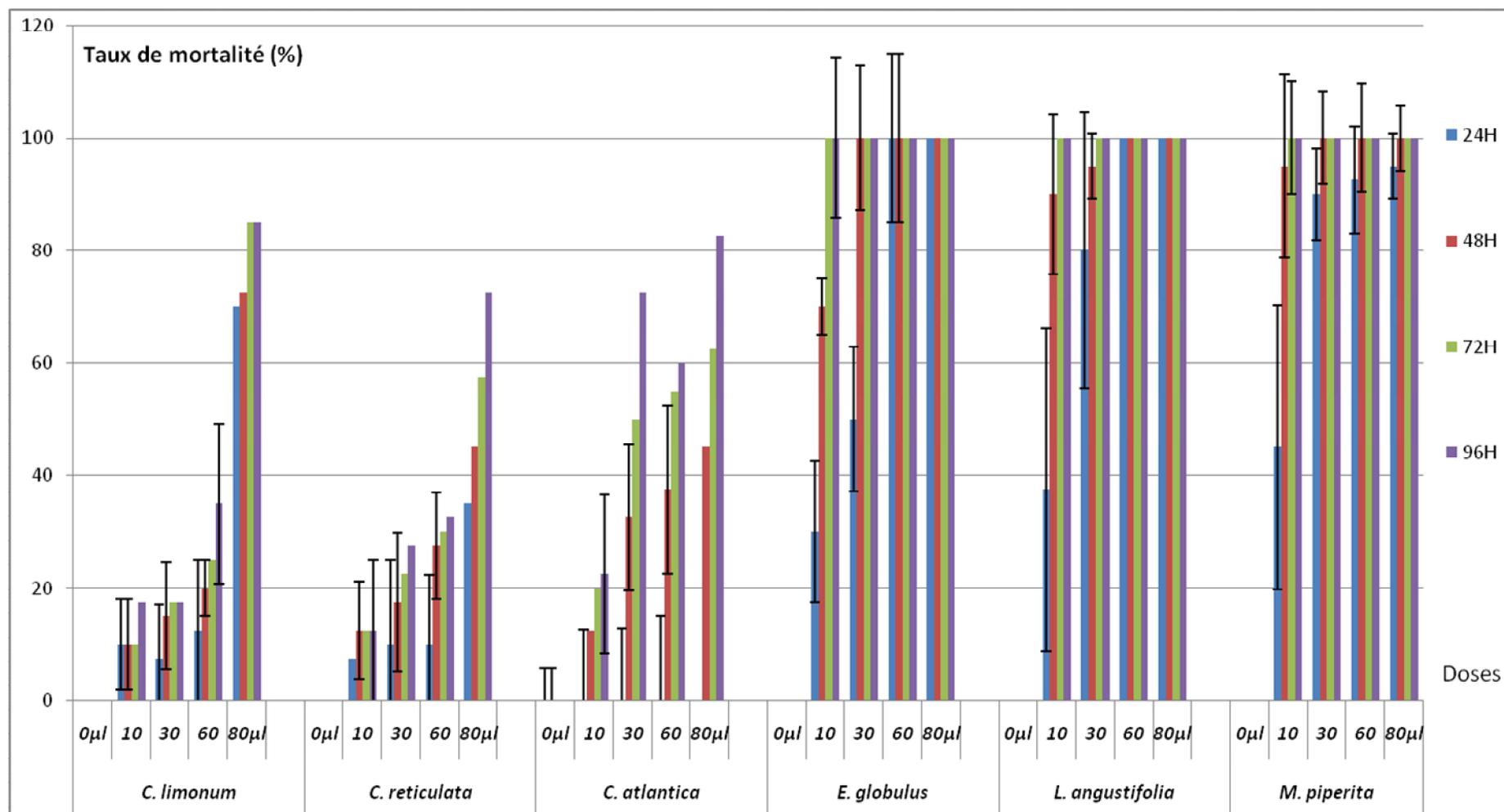


Figure 31. Taux moyen de mortalité (%) (\pm écart-type) des adultes d'*A. obtectus* traités par inhalation à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques en fonction de la durée d'exposition.

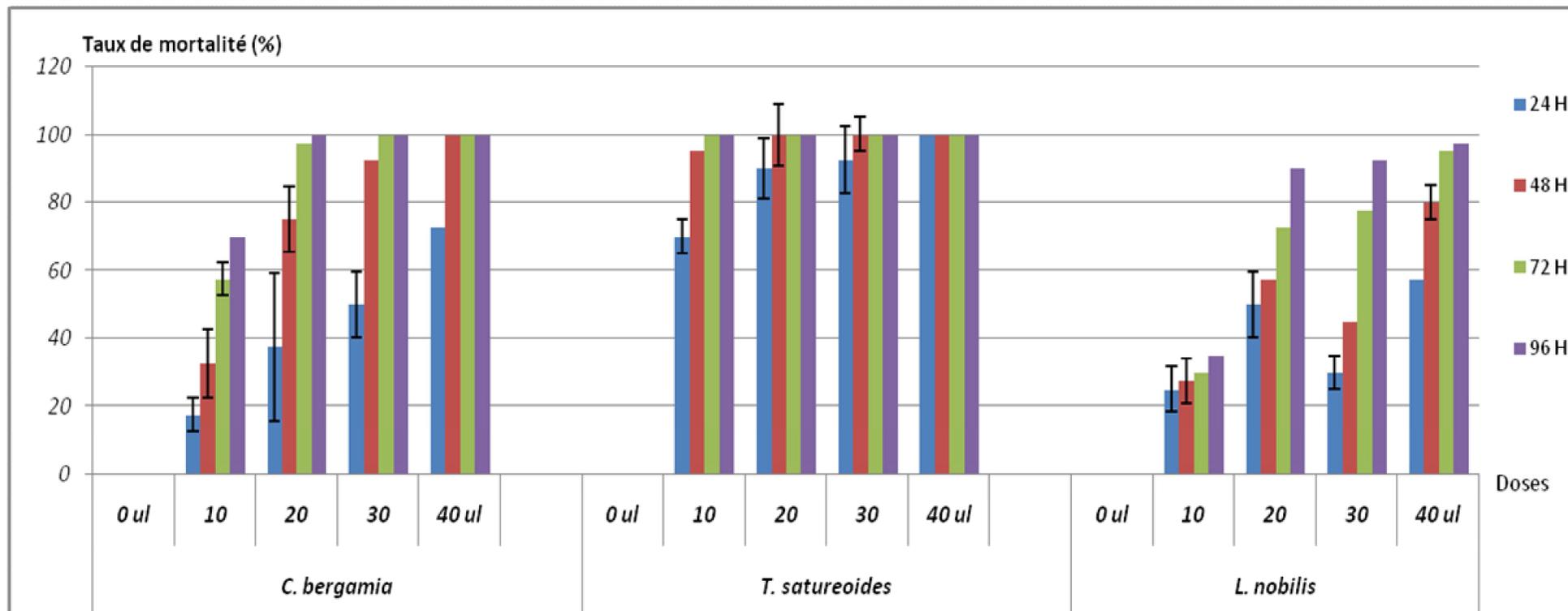


Figure 32. Taux moyen de mortalité (%) (\pm écart-type) des adultes d'*A. obtectus* traités par inhalation à différentes doses d'huiles essentielles des plantes aromatiques en fonction de la durée d'exposition.

Les traitements par inhalation aux huiles essentielles des plantes aromatiques affectent considérablement la longévité des adultes d'*A. obtectus* ; les moyennes de mortalité augmentent avec l'augmentation de la dose et de la durée d'exposition. C'est l'huile de thym qui s'est avérée la plus efficace parmi les Lamiacées et l'huile de bergamote parmi les Rutacées.

5.2. Discussion

Dans cette étude nous avons tenté d'évaluer l'effet bioinsecticide des huiles essentielles par inhalation sur les adultes d'*A. obtectus* en fonction des doses et de la durée d'exposition.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus sur la bruche du haricot par de nombreux auteurs notamment Regnault-Roger et Hamraoui (1995) et Bouchikhi Tani et *al.* (2008) qui ont montré que les huiles essentielles de nombreuses plantes aromatiques ont un effet insecticide par inhalation mais aussi par contact et par répulsion.

En effet, la toxicité par inhalation des huiles essentielles et de leurs composés majoritaires, les monoterpènes volatils a été largement décrite (Regnault-Roger et *al.* 1993 ; Regnault-Roger et Hamraoui, 1995). Selon Regnault-Roger et Hamraoui (1993), les différentes huiles essentielles extraites par hydrodistillation de plantes de la famille de Lamiacées, Myrtacées, Lauracées et des Graminées présentent une toxicité inhalatrice sur *A. obtectus*, notamment les huiles essentielles de *T. serpyllum*, *T. vulgaris* et *L. angustifolia* (Lamiacées) qui causent une mortalité de 95% après 24 heures et une mortalité de 100% après 48 heures pour des concentrations respectives de 160 mg/dm³, 136,1 mg/dm³ et 145 mg/dm³.

Regnault-Roger (1997) montrent que l'huile de laurier noble, aneth, basilic, muscade, sarriette et romarin ont une toxicité inhalatrice sur les adultes d'*A. obtectus* qui est dû à la constitution majoritaire des huiles essentielles qui sont des composées monoterpéniques et dérivés isoprénoides.

Dans notre cas, les huiles essentielles de Rutacées sont constituées essentiellement de monoterpènes : 60% à 75% de limonène et 8% à 10% de terpinène. Ces composés présentent une capacité à réduire la fécondité des adultes d'*A. obtectus* qui elle-même dépend de l'effet toxique de ces huiles sur les adultes (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994, 1995). De plus, les vapeurs des huiles essentielles peuvent agir indirectement en masquant l'action stimulatrice des graines de haricot provoquant un changement dans le microenvironnement des sites de pontes donc un effet sur l'oogenèse de *A. obtectus* (Huignard, 1969 ; Pouzat, 1978).

Nos résultats ont montré qu'en dehors de l'huile de bergamote qui s'est montrée efficace à des doses faibles, les huiles de Rutacées semblent agir faiblement sur la longévité des adultes de la bruche du haricot. En effet, comparativement à d'autres huiles essentielles de Lamiacées (basilic, menthe et lavande) et de Myrtacées (Eucalyptus), Papachristos et Stamopoulos (2002a) ont montré que l'huile essentielle des *C. sinensis* semble avoir une faible action insecticide sur *A. obtectus* avec une CL50 de 11,4 μ L / l air pour les mâles et 19,54 μ L / l air pour les femelles alors que la CL50 de *L. hybrida* est de 1,64 μ L / l air pour les mâles et 2,34 μ L / l air pour les femelles. Par ailleurs, Hedjal-Chebheb (2014) a comparé l'effet insecticide de plusieurs huiles essentielles de Myrtacées faisant ressortir l'huile essentielle d'*Eucalyptus cinerea* comme la plus efficace en enregistrant une mortalité de 100% des adultes de *C. maculatus* après traitement avec une dose de 25,5 μ l/L par fumigation.

La composition de l'huile essentielle des feuilles de laurier noble récoltés dans la région de Tizi-Ouzou déterminée par l'analyse GC et GC/MS a montré que les composés majoritaires de cette huile est le 1,8-cinéole (34,62%), le linalool (12,57%), camphène (8,91%) et l'isovaleraldéhyde (8,82%) (Mediouni Ben Jemâa et al., 2012). Papachristos et Stamopoulos (2002a) rapportent que les huiles essentielles de *L. nobilis* présentent une action répulsive contre *A. obtectus*. Le 1,8-cinéole est aussi le composé majoritaire de l'huile essentielle d'*E. globulus* (82,42%) et de limonène (8,47%).

A côté de la bruche du haricot, les huiles essentielles des Rutacées ont montré des effets insecticides significatifs aussi bien par inhalation que par contact ou répulsion sur d'autres espèces de Coléoptères nuisibles des denrées stockées tels que *S. zeamais* et *T. castaneum* (Haubruge et al., 1989). Les travaux de Rossi et al. (2012) sur les propriétés insecticides, par inhalation, de l'huile essentielle de *C. bergamia* à l'égard des adultes de *S. zeamais* ont montré une mortalité significative après 96 heures d'exposition à une dose de 10 μ L Cm⁻². Ils ont observé également que l'huile de bergamote, à la dose de 0,75 μ L insecte⁻¹, est à l'origine d'une mortalité relativement élevée de 65% et de 83% après 24 heures et 96 heures d'exposition respectivement avec une DL50 de 0,36 μ L insecte⁻¹ après 96 heures.

Parmi les plantes aromatique, la famille des Lamiacées (Labiatae) a montré des effets insecticides les plus prononcés. Cette famille est bien connue pour sa composition en quantités élevées en huiles essentielles (Regnault-Roger et al., 1993) mais aussi en substances polyphénoliques qui sont également capables de protéger les plantes contre les attaques d'insectes ravageurs (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994, 1995 ; Regnault-Roger et al., 2004).

Selon Papachristos et Stamopoulos (2002a), sur 13 huiles essentielles testées par fumigation contre les adultes d'*A. obtectus*, c'est surtout les espèces de Lamiacées qui sont les plus toxiques : les mâles sont plus sensibles que les femelles avec des valeurs de la CL50 de 1,1 ; 1,2 ; 1,6 et 2,1 µl/Lair pour les huiles essentielles de *Mentha microphylla*, *M. viridis*, *L. hybrida* et *R. officinalis*. Les femelles semblent être moins sensibles avec une CL50 de 2,3 ; 3,3 ; 4,4 et 5,1 µl/Lair respectivement pour *L. hybrida*, *R. officinalis*, *M. viridis* et *M. microphylla*.

Des effets toxiques similaires des substances volatiles contenues dans les huiles essentielles de laurier, romarin et lavande ont été déjà décrits pour *Oryzaephilus surinamensis* (L.) *Sitophilus oryzae* (F.) et *Rhyzoperta dominica* (L.) avec une mortalité de 85 à 100% est rapportée après 4 jours d'exposition à une dose de 70µl/L air ; cependant, les valeurs de CL50 sont beaucoup plus élevées que celles enregistrées sur *A. obtectus* (Shaaya et al., 1997).

L'activité insecticide des huiles essentielles d'origan (*O. onites* L.), de la sariette (*Satureja thymbra* L.) (Lamiacées) et de myrte (*Myrtus communis* L.) (Myrtacées) contre insectes ravageurs des stocks est étudiée par Ayvaz et al. (2010). Pour ces auteurs, *A. obtectus* s'est montrée l'espèce la plus tolérante vis-à-vis des huiles essentielles avec l'effet le plus toxique attribué au myrte (linalool) alors que les huiles essentielles de d'origan et de sauge sont hautement efficaces contre la pyrale méditerranéenne de la farine (*Ephestia kuehniella* Zeller) et la pyrale indienne de la farine (*Plodia interpunctella* Hübner) (Lepidoptera : Pyralidae) enregistrant une mortalité de 100% après 24h d'exposition à 9 et 25 µl/L air pour *P. interpunctella* et *E. kuehniella* respectivement.

Les travaux de Rozman et al. (2007) ont évalué l'activité insecticide par fumigation des composés essentiels (1,8-cinéole, camphor, eugénol, linalool, carvacrol, thymol, borneol, bornyl acetate et linalyl acetate) des plantes aromatiques de *L. angustifolia*, *R. officinalis*, *T. vulgaris* et *L. nobilis* contre les adultes de trois ravageurs des denrées stockées, *S. oryzae*, *R. dominica* et *T. castaneum*. *S. oryzae* est beaucoup plus affectée par le 1,8-cinéole, borneol et thymol à la plus faible dose (0,1µl/720ml volume) après 24h alors que pour *R. dominica*, c'est le camphor et le linalool qui se sont montré efficaces engendrant une mortalité de 100% dans les mêmes conditions. Cependant, aucun des composés n'a dépassé 20% de mortalité après 24h d'exposition même avec les plus fortes doses utilisées (100µl/720ml volume) pour *T. castaneum*. Après 7 jours d'exposition, le 1,8-cinéole induit une mortalité de 92,5% suivi du camphor (77,5%) et du linalool (70%).

1. Introduction

L'existence d'insectes phytophages est subordonnée à la présence d'espèces végétales qui ont connu une coévolution parallèle et interdépendante (Strebler, 1989 ; Regnault-Roger, 2002). Les plantes constituent une source de nourriture et servent de sites de ponte pour la majorité des insectes herbivores (Mathieu, 1995 ; Reddy et Guerrero, 2004 ; Hilker et Meiners, 2011).

De nombreuses études ont montré l'existence de médiateurs chimiques impliqués dans la communication entre les organismes, ce sont les composés sémiologiques impliqués dans les relations duales récepteur-émetteur, agissant comme messageur entre individus de la même espèce ou d'espèces différentes.

Ces composés se définissent comme étant des molécules non nutritives produites par un organisme en vue d'affecter le comportement ou la biologie d'individus de la même espèce (phéromones) ou d'espèces différentes (molécules allélochimiques). Ces dernières sont dites allomones lorsqu'elles sont bénéfiques à l'émetteur et kairomones lorsqu'elles sont bénéfiques au récepteur et allokairomones lorsqu'elles sont bénéfiques pour les deux. Les molécules allélochimiques végétales auraient une action sélective puisqu'elles exercent divers effets sur les insectes qui diffèrent par leur mode d'action défensif, toxique, répulsif, inhibiteur de la digestion, attractif, inducteur de ponte (Regnault-Roger, 2002).

Strebler (1989) propose une classification en fonction de leur famille chimique, de leur origine biochimique ou de leur activité biologique (Tab. 16). Ces composés, souvent présents à l'état individuel mais dans des concentrations différentes dans différents taxons, peuvent notamment servir à la localisation d'une plante hôte pour des insectes phytophages (Visser, 1986).

Les insectes phytophages et plus particulièrement les Coléoptères présentent une grande diversité allant de l'espèce à régime alimentaire vaste (polyphage) jusqu'à l'espèce strictement inféodée à une seule espèce botanique. D'après Kergoat et *al.* (2005), *Acanthoscelides* Schilsky, 1905 est le plus large genre parmi les Bruchidae avec environ 300 espèces décrites et dont la majorité sont oligophages ou monophages (Alvarez et *al.*, 2006).

Tableau 16. Classification des substances allélochimiques volatiles basées sur les types d'interaction avec le monde animal (d'après Strebler, 1989).

Substances allélochimiques (Relations interspécifiques)
<p>Allomones : avantage pour l'émetteur</p> <ul style="list-style-type: none"> • Attractifs (prédateurs) • Substances de défense (substances d'évasion, répulsifs, stimulants de locomotion)
<p>Kairomones : avantage pour le récepteur</p> <ul style="list-style-type: none"> • Attractifs (recherche de nourriture) • Substances de défense (avertisseurs) • Inducteurs de comportement (inducteurs de cessation de locomotion, inducteurs de formation de défense, inducteurs de ponte ...).
<p>Allo-kairomones ou synonymes : avantages réciproques émetteur récepteur</p> <ul style="list-style-type: none"> • Attractifs pollinisateurs • Attractifs de parasitoïdes ou prédateurs actifs sur le ravageur

Parmi les espèces dont les plantes hôtes ont été sûrement identifiées, environ 100 espèces se développent sur Faboideae, 35 espèces sur des Mimosoideae et 6 espèces sur des Caesalpinioideae ; et la minorité des espèces décrites se nourrissent de plantes non légumineuses telles que les Malvaceae (30), Grewioideae (8), Byttnerioideae (2), Onagraceae (1), Rhamnaceae (1) et Cistaceae (1) (Johnson 1983, 1989, 1990 in Alvarez et al., 2006). Ceci détermine la stratégie de l'insecte dans la recherche de l'hôte qui doit être beaucoup plus performante dans le cas des insectes monophages où la localisation de l'hôte est fréquemment le résultat de facteurs chimiques et/ou visuels (Reddy et Guerrero, 2004).

Les plantes produisent de nombreuses substances du métabolisme secondaire qui ne sont pas essentielles à la croissance et au développement de la plante mais qui peuvent avoir des activités intra- ou interspécifiques diverses (Guignard et al., 1985 ; Hassan-Adeyemi, 2011). Le total des métabolites secondaires produites par environ 200.000 espèces d'angiospermes est estimé entre 50.000 et 100.000 (Metcalf, 1987) ; les structures élucidées sont autour de 50 000, faites pour une petite fraction des métabolites secondaires existants dans la nature (De Luca et St Pierre, 2000 in Chen, 2008).

Une faible proportion de ces composés est représentée par des substances volatiles qui jouent un rôle important dans la localisation de l'hôte à distance par les organes récepteurs olfactifs des insectes. Les plantes produisent deux types de signaux chimiques : les composés

organiques volatils non spécifiques ou les *green leaf volatiles*, composés oxygénés ou hydrocarbures de petit poids moléculaire émis lors d'un stress (par exemple lors de l'attaque d'insectes) et des composés organiques volatils spécifiques liés à l'appartenance taxonomique de la plante, essentiellement caractérisés par des terpènes et des sesquiterpènes et émis en permanence par la plante (variable en fonction de l'âge de la plante et de l'organe) (Mercier et al., 2013). La classification des substances volatiles émises par les plantes basée sur la composition chimique et l'origine biochimique est illustrée par le tableau 17.

Le système de communication des insectes semble s'appuyer plus sur l'odeur (récepteurs olfactifs) plutôt que le goût (récepteurs gustatifs ou de contact) (Matthews et Matthews, 1978). En effet, un grand nombre d'espèces botaniques émettent des composés dits généralistes (substances terpéniques) tandis qu'un petit nombre d'entre elles émettent des composés spécifiques (composés cyanés ou soufrés). Cependant, une espèce donnée émet des dizaines voire des centaines de substances diverses avec des proportions propres à chaque plante. D'où chaque plante présente un bouquet odorant spécifique du point de vue qualitatif que quantitatif.

Tableau 17. Classification des substances volatiles émises par les plantes basée sur la composition chimique et l'origine biochimique (Adapté de Guignard et al., 1985 ; Metcalf, 1987 ; Bernays et Chapman, 1994).

Famille chimique	Origine biochimique
Métabolisme secondaire des végétaux	
Terpènes, sesquiterpènes et dérivés d'oxygène	Condensation de l'acide mévalonique.
Aromatique et dérivés.	Dérivé de l'acide cinnamique ou shikimique.
Odeurs vertes, « Green odors volatiles »	Oxydation de la couche de lipides.
Substances cyanées et/ou soufrées.	Dégradation enzymatique des glucosinolate.
Métabolisme des microorganismes vivant dans les végétaux.	
Composés fermentaires : Alcools, acides, esters et dérivés à courte chaîne carbonée.	Dégradation fermentaire aérobie des sucres.

Les sémiochimiques déterminent plusieurs situations de la vie des insectes comme l'alimentation, l'accouplement et la ponte des œufs (Norin, 2007). Les plus largement utilisés sont les phéromones sexuelles, employées pour la suppression des populations ou bien pour leurs détection et surveillance efficaces. Des phéromones ont été isolées pour de nombreux

insectes des denrées stockées et des leurres sont disponibles commercialement (Chambers, 1990 ; Phillips et *al.*, 2000). Cependant, les composés volatils des plantes peuvent également être utilisés avec succès en manipulant le comportement de localisation de l'hôte de l'insecte ciblé. En effet, les composés sémiochimiques des plantes sont connus pour être à l'origine d'un grand ensemble de réponses comportementales chez les insectes. Ils peuvent être des agents de défense constitutifs contre les pathogènes et les herbivores ; comme ils peuvent stimuler la production d'une phéromone ou encore induire des effets répulsifs ou attractifs sur la ponte, qui est début d'établissement d'une génération d'herbivore (Bernays et Chapman, 1994 ; Reddy et Guerrero, 2004).

A. obtectus utilise les sémiochimiques à différents stades de développement de son cycle de vie et les femelles gravides doivent choisir des sites de ponte adéquats afin d'assurer la survie de leur progéniture. Ce choix peut faire intervenir plusieurs signaux plus particulièrement les signaux olfactifs.

Des études antérieures ont surtout porté sur les COVs émis par l'insecte. Les mâles produisent une phéromone sexuelle le méthyle-ester (R, 2E)- 2,4,5-tetradecatrienoate identifiée pour la première fois par Horler (1970). Les travaux de Halstead (1973) ont montré que les mâles attirent les femelles vierges et que celles-ci sont plus attirées par des mâles plutôt que par des graines ou des gousses de haricot ; ceci suppose que la phéromone intervient pour assurer l'accouplement avant la dispersion.

Szentesi (1981) ; Brzostek et Ignatowicz (1990), pour leur part ont rapporté que les mâles et les femelles émettent des signaux de ponte sur des graines de haricot qui stimulent la dispersion de l'insecte dans les graines et que le comportement de ponte d'*A. obtectus* semble être une adaptation à des environnements différents le champs et les entrepôts (Parsons et Credland, 2003). En effet, les investigations de Nazzi et *al.* (2008) ont montré que les femelles préfèrent l'odeur émise (en olfactométrie) par les graines saines non infestées que par des graines sur lesquelles des conspécifiques se sont déjà développées et que des extraits à l'éther de ces dernières se sont montrés répulsifs à l'égard de la bruche du haricot. Les substances sémiochimiques sont déterminantes dans l'alimentation, l'accouplement et la ponte des œufs, tout au long du cycle de vie de l'insecte et par conséquent elles constituent un moyen potentiel pour la lutte sélective des insectes ravageurs en utilisant des phéromones et/ou des kairomones.

Un nombre important d'insectes ravageurs utilise les substances volatiles des plantes dans la localisation de l'hôte. Depuis quelques décennies, le rôle du signal chimique émis par les plantes a été évalué et considéré comme un repère important pour la reconnaissance du site de ponte (Bernays et Chapman, 1994 ; Bruce et *al.*, 2005). Les insectes localisent la plante hôte souhaitable en intégrant de nombreux « inputs » sensoriels incluant les signaux sémiouchimiques olfactifs et gustatifs et des informations physiques telles que la couleur, la forme et la texture de la plante hôte. Cependant, très peu d'études sont publiées sur la localisation de l'hôte chez les insectes ravageurs des denrées stockées tel qu'*A. obtectus* en relation avec les COVs émis par les graines des cultivars de haricot.

L'objectif de ce chapitre est de déterminer quels sont les cultivars qui sont attractifs ou répulsifs à l'égard de la bruche du haricot et à quel point le choix des adultes fécondés est influencé par les COVs émis par ces cultivars en tenant compte des signaux olfactifs et visuels dans les tests biologiques de choix en boîtes de Pétri et des signaux olfactifs seuls dans le test en olfactomètre. Cette étude du comportement est complétée par l'analyse des composés organiques volatiles émis par ces différents cultivars en utilisant les méthodes de microextraction en phase solide (headspace SPME, solid phase microextraction) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

L'étude de la biologie de la bruche du haricot sera faite sur les cultivars considérés afin de voir quels sont les cultivars les plus résistants et les plus sensibles.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Les bruches

Les individus d'*A. obtectus* testés appartiennent à la même génération. Chaque jour, les adultes nouvellement émergés sont placés pendant 48 heures dans des boîtes de Pétri pour accouplement ; les individus sont sexés pour séparer les mâles des femelles fécondées puis utilisés pour les différents bio essais.

2.1.2. Les Légumineuses utilisées

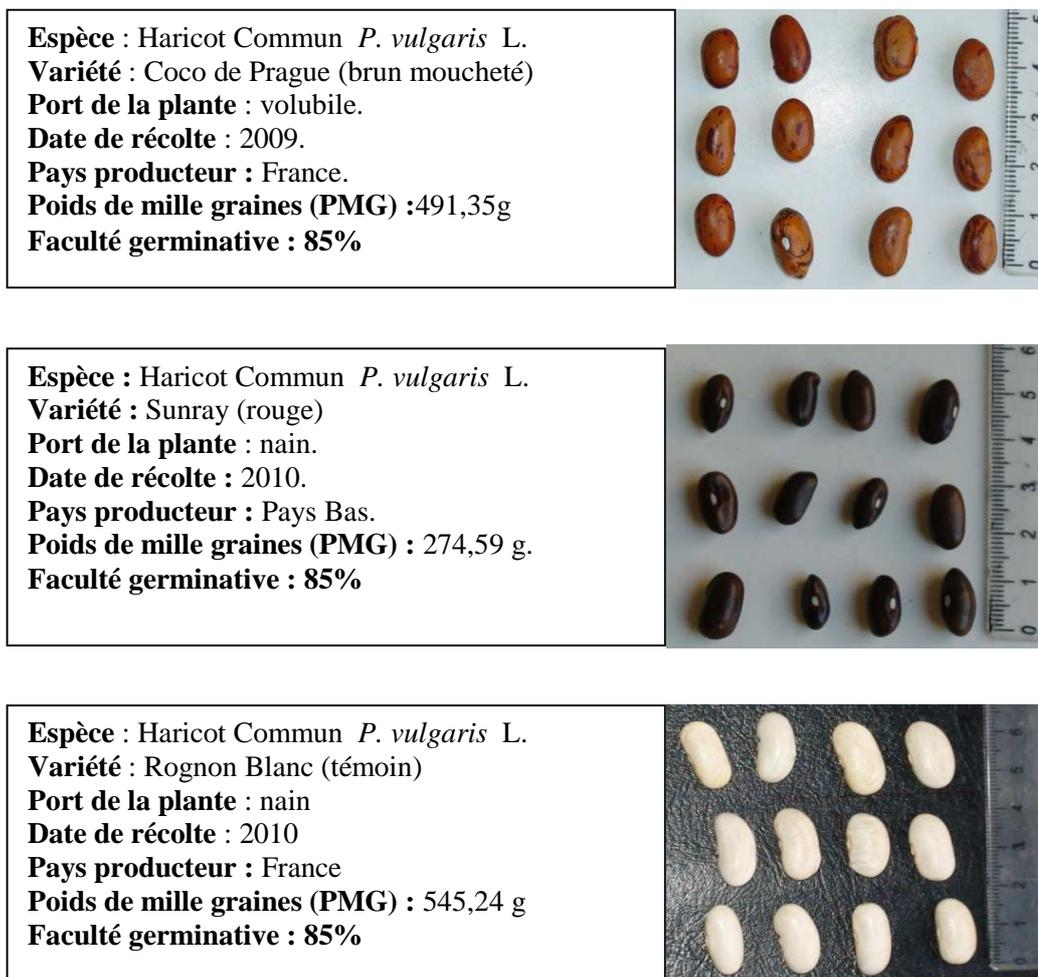
Cinq cultivars de *P. vulgaris* L. (haricot Rognon blanc pour témoin, petit haricot blanc, le haricot rouge, le haricot brun moucheté et le haricot jaune moucheté) et un cultivar de *V. unguiculata* (Walp.) (Black eyes California) obtenus à partir d'un fournisseur commercial à Tizi-Ouzou sont utilisés (Fig. 33). Les graines ne sont pas traitées par aucun insecticide ni

autres composés chimiques. Elles sont conservées à 4°C avant utilisation. Le cultivar rognon blanc sur le quel l'élevage de masse de la bruche est effectué est considéré comme témoin. Dans le test de choix en olfactomètre, ce sont uniquement les cultivars rouge, petit blanc et niébé qui sont comparés en présence du témoin.

2.2. Conditions expérimentales

2.2.1. Tests biologiques de choix

Des chambre de choix sont préparées à l'aide de boites de Pétri (9,1 cm de diamètre) subdivisées en deux secteurs. Des combinaisons des graines témoin contre l'un des autres cultivars soit rouge, blanche, jaune brune ou dolique sont testées (Fig. 34). Pour chaque combinaison, une graine témoin face à une graine des cultivars à tester sont placées à équidistance des parois de la boîte. A l'extrémité opposée de la boîte, un adulte mâle accouplé ou femelle gravide est placé et observé pendant dix minutes à raison de 12 répétitions pour les mâles et pour les femelles. Ces essais sont conduits à une température de 23°C sous une lumière blanche artificielle en prenant soin d'avoir toujours les mêmes conditions.



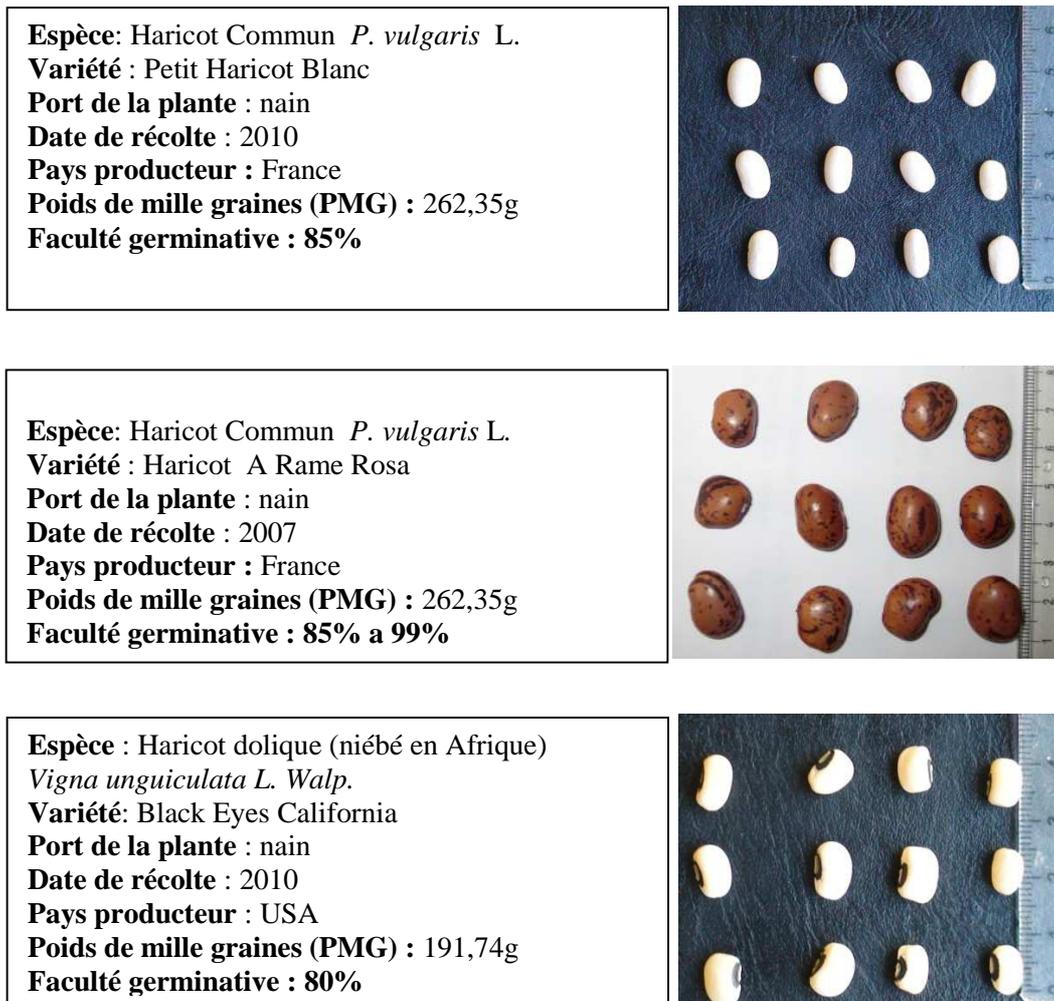


Figure 33. Caractéristiques agro-morphologiques des graines de chaque variété de *P. vulgaris* et de *V. unguiculata* testées (Originale, 2012).

Le choix initial, le temps de choix (en secondes) nécessaire pour que les adultes effectuent leur choix (temps qui s'écoule de l'introduction de l'insecte jusqu'au moment où l'insecte est sur la graine du cultivar choisi) ainsi que le temps passé sur chacun des cultivars (temps total) sont notés. Dans ces bioessais, l'insecte peut être guidé aussi bien par les facteurs olfactifs que visuels.

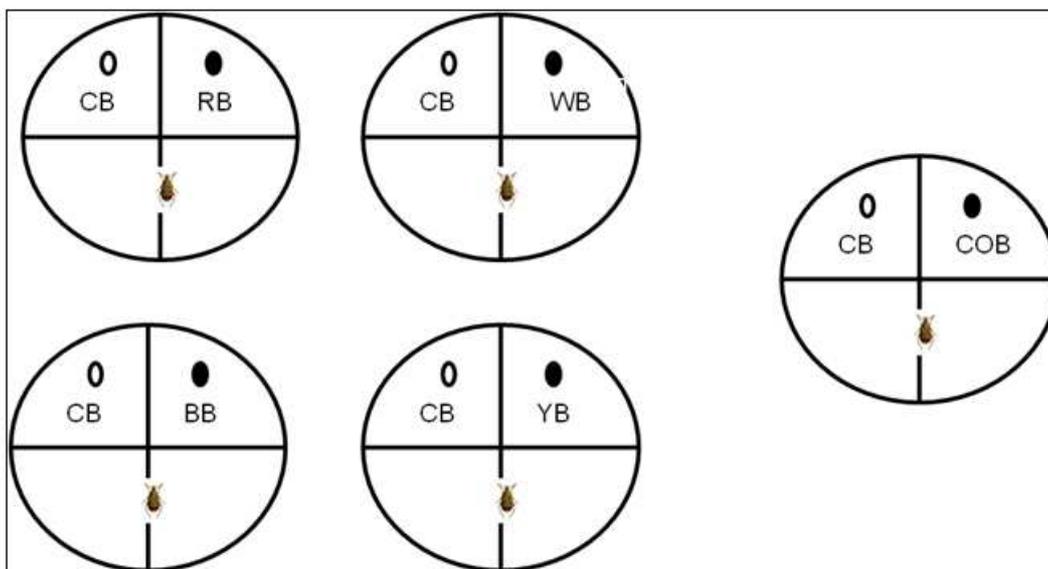


Figure 34. Combinaisons des graines des cultivars de haricot présentées aux mâles et aux femelles fécondés d'*A. obtectus* dans les tests à deux choix.

CB : haricot témoin, RB : haricot rouge, WB : petit haricot blanc, BB : haricot brun, YB : haricot jaune moucheté et COB : haricot dolique.

2.2.2. Tests par olfactométrie

Afin de déterminer l'importance de l'olfaction dans l'attraction à distance des adultes de la bruche du haricot, un olfactomètre à quatre voies (dimensions internes des chambres : 6,5/6,5 cm et dimensions externes 24,5/24,5 cm) construit selon Vet et *al.* (1983) est utilisé pour observer le comportement des adultes d'*A. obtectus*. Ceux-ci sont stimulés uniquement par les composés organiques volatils émis par les cultivars sélectionnés lors du test biologique précédent à savoir les cultivars petit blanc, rouge et le haricot dolique (black eyes California). L'olfactomètre comprend quatre zones formées par les quatre arrivées d'air ; deux sources d'air ayant chacune traversé un ballon en verre (vol =50ml) contenant les graines des cultivars de haricot à tester (Fig. 35).

Dans un premier temps, les graines sont présentées aux adultes mâles et femelles gravides 2 à 2 : le témoin dans une voie et le cultivar à tester dans une autre voie d'arrivée d'air. Les adultes d'*A. obtectus* sont placés au centre de l'olfactomètre et observés pendant cinq minutes et le choix effectué par les individus est noté. Quinze (15) répétitions sont effectuées pour le petit blanc et le dolique et 10 répétitions pour le cultivar rouge.

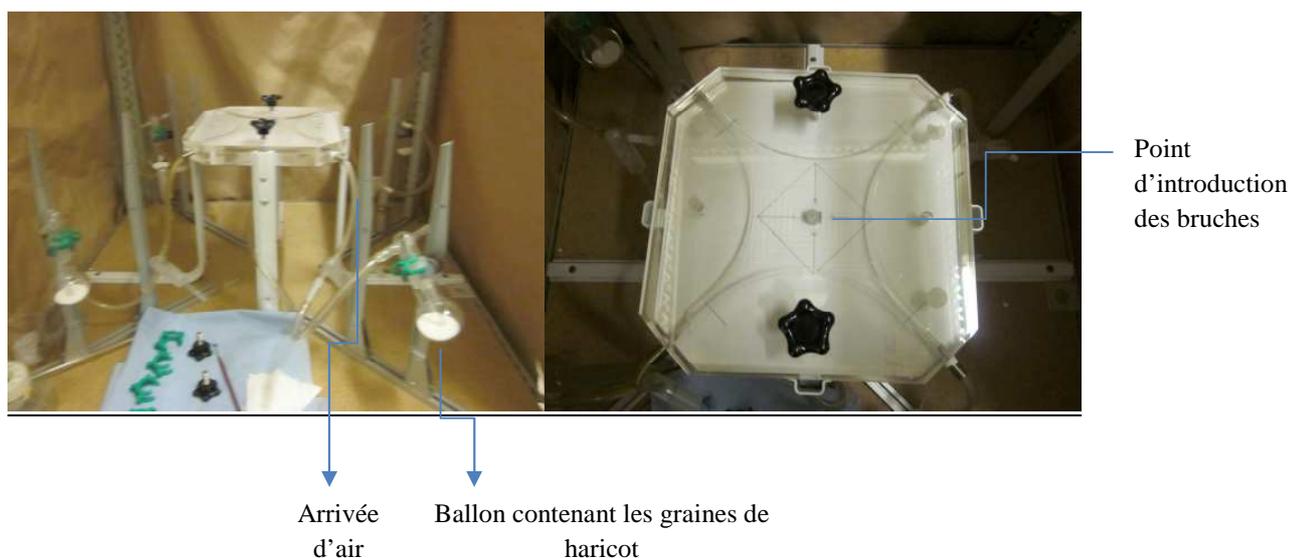


Figure 35. Olfactomètre à quatre voies utilisé dans le test par olfactométrie des substances volatiles émises par les cultivars de haricot testés à l'égard des adultes d'*A. obtectus*.

L'olfactomètre est placé dans une chambre noire maintenue à une température de 23°C et illuminé par le haut avec une lumière blanche. Après chaque répétition, l'olfactomètre est nettoyé à l'éthanol séparément pour chaque voie. Le choix initial des individus ainsi que le temps nécessaire pour faire ce choix sont enregistrés.

La même expérience est conduite en présentant au même temps les trois cultivars en question et le témoin. Douze (12) répétitions sont effectuées pour les mâles et pour les femelles. Le choix initial des individus ainsi que le temps de choix sont évalués.

Les mêmes paramètres que précédemment sont évalués.

2.2.3. Extraction des composés volatils

La collecte des composés organiques volatils est faite par la méthode de microextraction sur support solide (solid phase microextraction : SPME). Des échantillons de 26g de graines sèches des cultivars de haricots étudiés sont placés dans des ballons en verre (vol=50ml) hermétiquement fermés et laissés pendant 1heure pour équilibrage. Des fibres de silice SPME (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane - DVB/CAR/PDMS - 50/30 µm SUPELCO) sont introduites à travers la feuille d'aluminium couvrant les ballons dans l'espace au-dessus des graines (extraction headspace) sans toucher les graines ni les parois du ballon (Fig. 36).

Les composés sont extraits par adsorption sur la fibre. Après 24 heures, les fibres sont récupérées et enveloppées dans du papier aluminium et conservées dans des tubes en verre à -20°C pour les analyser ultérieurement. Deux répétitions sont réalisées pour chaque cultivar.



Figure 36. Dispositif expérimental de la méthode de microextraction en phase solide (SPME) des substances volatiles des cinq cultivars de haricot et du lot témoin

2.2.4. Analyse des composés

L'analyse est effectuée par chromatographie en phase gazeuse (GC) (VARIAN 3400 CX) couplée à la spectrométrie de masse (MS) (VARIAN-Ion Trap Saturn II). Les composés chimiques adsorbés sur les fibres SPME sont thermiquement désorbés dans l'injecteur maintenu à 250°C. La séparation des composés est réalisée en utilisant une colonne Rxi-5 ms (Restek, France : 30 m × 0.32 mm i.d. épaisseur du film 0.25 µm). Le programme de température du four est de 3 min à 50°C, suivi par accroissement des températures de 9°C/min jusqu'à atteindre 300°C. L'hélium est utilisé comme gaz porteur. Les spectres de masse sont obtenus en mode impact électron (70 eV, 35 to 400 amu) avec une source d'ions à 230°C.

Les composés qui sont libérés des collections SPME sont identifiés en fonction de leurs spectres de masse et indexes de rétention (RI) calculés en utilisant n-alkanes de C₁₀ à C₂₄ échappés dans les mêmes conditions. Tous les spectres et des RI des composés sont comparés avec les spectres et RI des bibliothèques du laboratoire et NIST 1998 en utilisant le logiciel de déconvolution AMDIS32. Les composés organiques volatils collectés à partir des graines de haricot sont identifiés et les pourcentages relatifs (ratios) sont calculés par rapport aux

quantités totales des composés.

2.2.5. Etude de la biologie de la bruche sur les différents cultivars de haricots

Cette partie a comme objectif d'étudier le cycle de la bruche du haricot à travers certains paramètres biologiques afin de voir comment se développe la bruche sur chacun des cultivars en rapport avec leur attractivité et par conséquent d'évaluer la résistance variétale du haricot commun à l'attaque par *A. obtectus*.

Nous avons introduit 5 couples de bruches âgés de moins de 24 heures (5 mâles+5 femelles) dans des boîtes de Pétri contenant 25g de graines de haricot. Nous avons utilisé 4 cultivars de *P. vulgaris* : rouge, témoin, petit blanc et brun moucheté et un cultivar de *V. unguiculata* ; le cultivar jaune moucheté n'a pas été étudié. L'expérimentation est réalisée avec 5 répétitions pour chaque cultivar. Les boîtes de Pétri sont placées dans une étuve réglée à 30°C de température et 75% d'hygrométrie.

Nous avons procédé à une observation quotidienne des boîtes (toutes les 24h), et nous avons retiré les adultes morts et compté le nombre des œufs pondus dans chaque boîte de Pétri. La longévité, fécondité, taux d'éclosion, taux d'émergence de la bruche ainsi que la perte en poids et la faculté germinative des graines de haricot ont été étudiés et évalués comme précédemment (Cf. Chapitre IV, p. 32).

Parallèlement, la durée du cycle de vie de la bruche est calculée sur toutes les variétés. Pour cela, nous avons infesté des graines de haricot saines par des bruches de même âge (0 à 24 heures), les graines sont placées dans des boîtes de Pétri en verre dans les mêmes conditions citées précédemment.

Grace à des observations régulières, nous avons déterminé la durée d'incubation des œufs, compté le nombre d'œufs pondus et le nombre d'œufs éclos et non éclos ainsi que les larves mortes à l'extérieur des graines.

Le développement larvaire et nymphal se déroule à l'intérieur de la graine. Pour le suivi du développement larvaire et nymphal, nous avons eu recours à des dissections des graines contaminées.

2.3. Analyse statistique des données

Les résultats concernant le comportement des mâles et des femelles sont exprimés en termes de choix 0 et 1. Le temps passé sur les cultivars ainsi que le temps de latence (secondes) sont enregistrés en relation avec la durée de l'expérimentation. Les séries de

données des paramètres étudiés lors des différents bioessais sont comparés en utilisant le test de Kruskal-Wallis à l'aide du programme GraphPad.

La comparaison des ratios des différentes substances volatiles identifiées par la SPME-GCMS sont soumis à une analyse factorielle des composantes (AFC) en utilisant le logiciel, Stat Box, version 6.3.

Les résultats obtenus à partir des essais sur la biologie d'*A. obtectus* sur les différents cultivars, sont soumis à une analyse de la variance à un facteur au seuil $P=5\%$ en utilisant le logiciel Stat Box, version 6.3 (Grimmersoft, 2004) complétée par le test de Newman et Keuls au seuil de 5% afin de déterminer les groupes homogènes (Dagnelie, 1975).

3. Résultats

3.1. Tests biologiques de choix

3.1.1. Choix initial

L'étude du comportement des adultes d'*A. obtectus* lors des test biologiques de choix ont révélé dans tous les cas que les réponses liées aux signaux visuels et olfactifs des mâles sont supérieures à celles des femelles (Fig. 37). Les mâles sont significativement plus attirés par les graines du cultivar rouge et blanc plutôt que celles du témoin ($P=0,0004$ et $P=0,0069$ respectivement) ; alors que les femelles n'ont montré aucun choix significatif. Contrairement, les graines du cultivar du niébé se sont montrées non attractives aux mâles d'*A. obtectus* ($P=0,0134$) mais tendent à être attractives aux femelles si bien que l'analyse statistique n'a pas révélé de différences significatives (Annexes, Tab. 23).

Les graines des cultivars bruns et jaunes se sont montrées attractives aux mâles et aux femelles de la bruche du haricot mais restent non significativement plus attractives que le témoin. Par conséquent, ces cultivars n'ont pas été étudiés dans le test par olfactométrie.

3.1.2. Temps de choix

Le temps de choix (temps nécessaire pour que les adultes fassent leurs choix) des mâles et des femelles d'*A. obtectus* sur les différents cultivars (Tab. 18) est comparé au témoin et paraît converger avec le choix initial effectué par les adultes. Les mâles passent moins de temps (155.67 ± 61.61 sec.) pour choisir les graines du cultivar rouge ($P=0,0001$) et plus de temps (349.67 ± 49.53 sec.) pour choisir les graines du cultivar petit blanc ($P=0,0579$). Au

contraire, les graines du lot témoin (274.92 ± 67.78 sec.) sont plus rapidement choisies par les mâles par comparaison aux graines du cultivar de niébé (538.58 ± 41.42 sec.) ($P = 0,0243$).

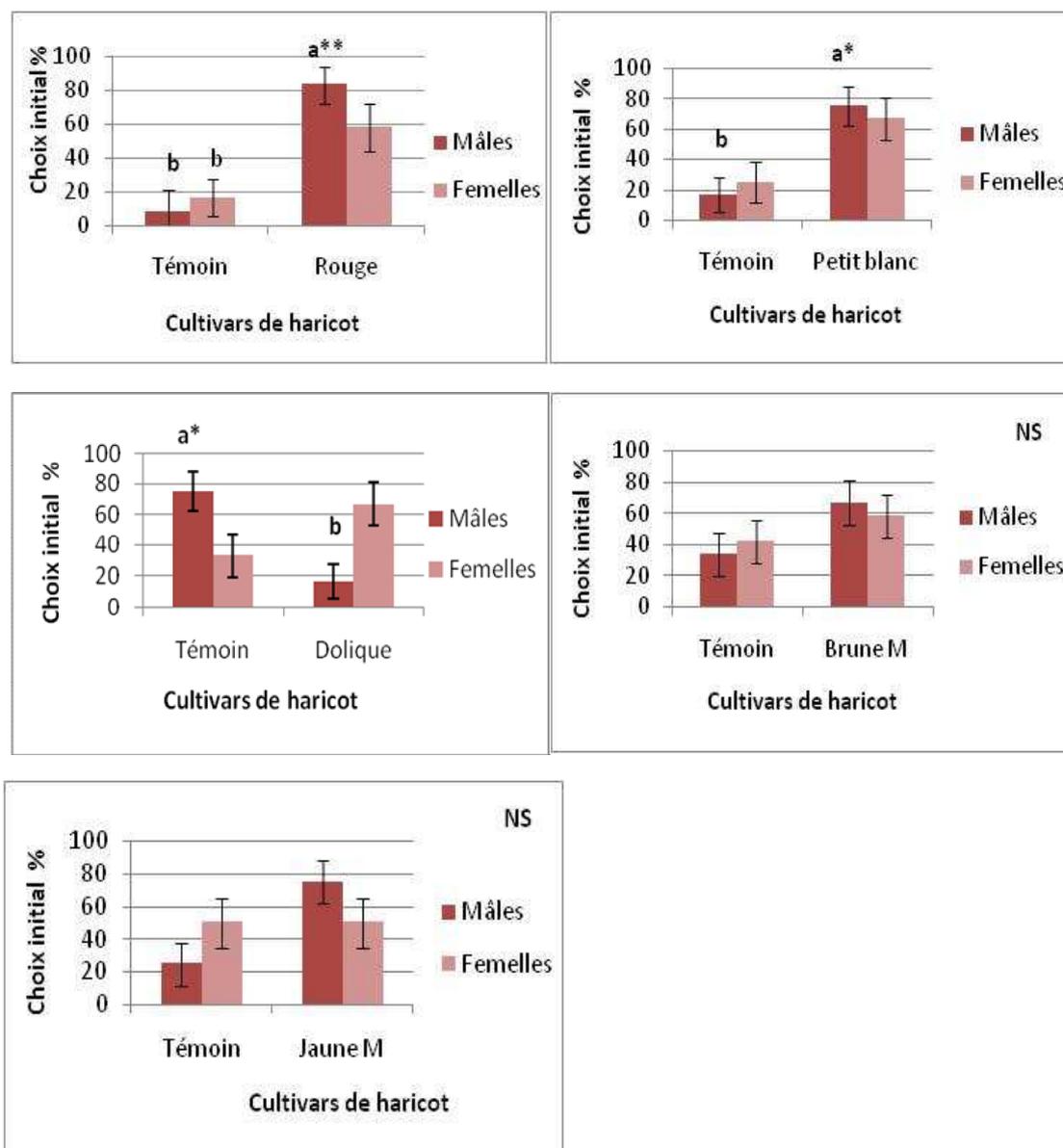


Figure 37. Pourcentage du choix initial des mâles et femelles gravides d'*A. obtectus* sur les graines des cultivars de haricot contre le témoin (cultivar Rognon blanc) dans le test à deux choix en boîtes de Pétri.

Toutes les expériences sont répétées 12 fois. Les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes à $P < 0,01$ déterminé par le test de Kruskal-Wallis. NS: non significative

Concernant les femelles, l'analyse du temps de choix n'a révélé aucune différence significative. Pour ce qui est des cultivars bruns et jaunes, les mâles et les femelles n'ont pas exprimé des différences significatives dans la durée du comportement de choix des graines. Ces résultats suggèrent que les mâles sont plus impliqués dans le choix des graines et qu'ils sont attirés dans un ordre croissant par les graines des cultivars rouges, blanc, témoin et niébé.

Tableau 18. Temps moyen de choix (sec.) \pm SE nécessaire aux mâles et aux femelles d'*A. obtectus* pour choisir les graines des différents cultivars versus le témoin.

	Mâles		Femelles		Valeur P KW
	Stimuli	Témoin	Stimuli	Témoin	
H. rouge Vs témoin	155.67 \pm 61.61	567.5 \pm 32.5	318.75 \pm 74.65	555.25 \pm 31.26	0.0001***
H. blanc Vs témoin	349.67 \pm 49.53	516.75 \pm 56.12	360.92 \pm 57.4	502.5 \pm 50.97	NS(0.0579)
H. dolique Vs témoin	538.58 \pm 41.42	274.92 \pm 67.78	360.83 \pm 59.93	430.5 \pm 74.30	0.0243*
H. brun Vs témoin	311.92 \pm 63.64	435.08 \pm 70.43	457.67 \pm 45.59	505 \pm 39.79	NS
H. jaune Vs témoin	346.75 \pm 48.98	504.17 \pm 50.1	329.92 \pm 81.48	365 \pm 71.86	NS

Toutes les expériences sont répétées 12 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

3.1.3. Temps total

L'étude du temps total passé par les adultes de la bruche sur les graines des cultivars étudiés a permis de montrer que les mâles et les femelles n'ont pas manifesté un choix particulier. Ainsi, il n'y a pas de différences significatives entre le temps passé par les mâles et les femelles sur les graines des cultivars rouge, brun et le niébé sauf pour les cultivars blanc (P=0,0005) et jaune (P=0,0130). Le temps passé par les mâles sur le cultivar petit blanc est supérieur à celui passé sur le témoin. De plus, les femelles, comparées aux mâles, passent significativement plus de temps sur le cultivar petit blanc que sur le témoin (Tab. 19).

Tableau 19. Temps moyen total (sec.) \pm SE passé par les mâles et les femelles d'*A. obtectus* sur les graines des différents cultivars versus le témoin.

	Mâles		Femelles		Valeur P KW
	Stimuli	Témoin	Stimuli	Témoin	
H.rouge Vs témoin	206.83 \pm 44.11	133.08 \pm 35.26	88 \pm 48.24	115.83 \pm 36.01	NS
H. blanc Vs témoin	133.42 \pm 48.25	3.66 \pm 2.49	190.42 \pm 47.15	48 \pm 19.92	0.0005***
H. dolique Vs témoin	61.75 \pm 39.30	174.83 \pm 35.35	130.25 \pm 34.88	108.17 \pm 44.88	NS
H. brun Vs témoin	111.75 \pm 22.16	120.67 \pm 7.09	94.58 \pm 29.53	64.25 \pm 19.68	NS
H. jaune Vs témoin	111.83 \pm 25.20	59.83 \pm 17.75	131.5 \pm 36.26	237.58 \pm 39.50	0.0130*

Toutes les expériences sont répétées 12 fois. Valeur P: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

3.2. Tests en olfactomètre

L'olfactomètre à quatre voies est utilisé pour observer le comportement des adultes d'*A. obtectus* en présence uniquement de composés volatils émis par les cultivars sélectionnés lors du test précédent à savoir les cultivars petit blanc, rouge, niébé et le témoin.

Dans ces bioessais, il n'y a pas de différences significatives pour le choix initial des mâles et des femelles d'*A. obtectus* lorsqu'ils sont stimulés par les odeurs des graines des cultivars rouge et blanc (ne sont pas attirés par les graines des cultivars rouges et blanc). Parallèlement, les femelles sont beaucoup plus attirées par les graines du lot témoin plutôt que celui des graines de niébé ($P=0,0061$) (Fig. 38 ; Annexes, Tab. 24). De manière générale, les mâles n'ont montré aucune attractivité (pas de différences significatives) vis-à-vis des odeurs émises par les graines qui leur sont présentées dans ces conditions expérimentales.

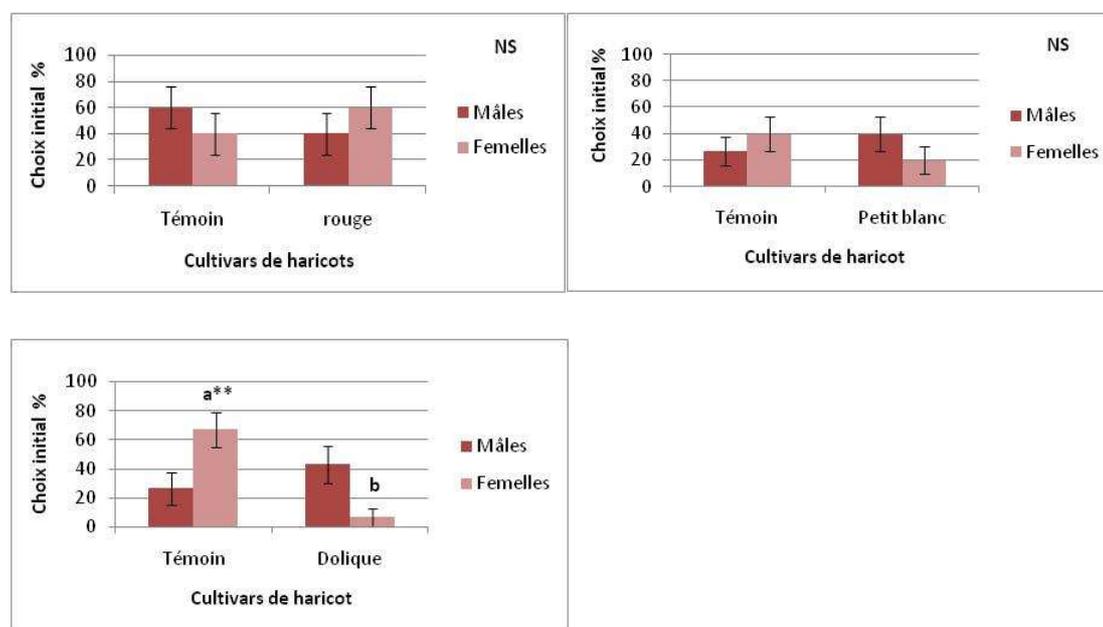


Figure 38. Pourcentage du choix initial des mâles et femelles gravides d'*A. obtectus* en olfactométrie à deux choix.

L'analyse du temps de choix (Tab. 20) a permis de confirmer les résultats du choix initial puisque les femelles ont exprimé un temps de choix plus faible dans le choix des graines du lot témoin par rapport aux graines du niébé ($P=0,0025$). Les autres cultivars quant à eux, se sont révélés non attractifs pour les adultes d'*A. obtectus* et la durée de la réponse ne diffère pas significativement. Ces résultats montrent que les femelles réagissent plus vite que les mâles aux odeurs émises par les graines de haricot dans l'olfactomètre mais sans exprimer

des différences significatives. Des différences significatives sont enregistrées uniquement pour les graines de niébé contre le témoin faisant ressortir ce dernier comme étant le cultivar le moins attractif comparé aux autres cultivars.

Tableau 20. Temps de choix moyen (sec.) \pm SE des mâles et des femelles gravides de *A. obtectus* en olfactométrie à deux choix.

	Mâles		Femelles		Valeur P KW
	Stimuli	Témoin	Stimuli	Témoin	
H. rouge Vs témoin (1)	238.8 \pm 31.30	185.9 \pm 38.90	187 \pm 38.62	230.8 \pm 35.93	NS
H. blanc Vs témoin (2)	190.27 \pm 36.02	225.75 \pm 32.95	243.87 \pm 30.02	188.53 \pm 36.51	NS
H. dolique Vs témoin (3)	199.67 \pm 33.02	231.47 \pm 30.63	281.33 \pm 18.66	133 \pm 32.52	0.0061

Les expériences 2 et 3 sont répétées 15fois / l'expérience 3 est répétée 10 fois. Valeur P: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

Lorsque les trois cultivars (rouge, petit blanc et dolique) sont présentés au même temps que la graine du cultivar témoin dans l'olfactomètre à quatre voies, les mâles et les femelles de la bruche n'ont manifesté aucun choix préférentiel (Fig. 39A). De même que le temps de choix ne diffère pas significativement d'un cultivar à un autre que ce soit pour les mâles que pour les femelles (Fig. 39B ; Annexes, Tab. 25 et Tab. 26).

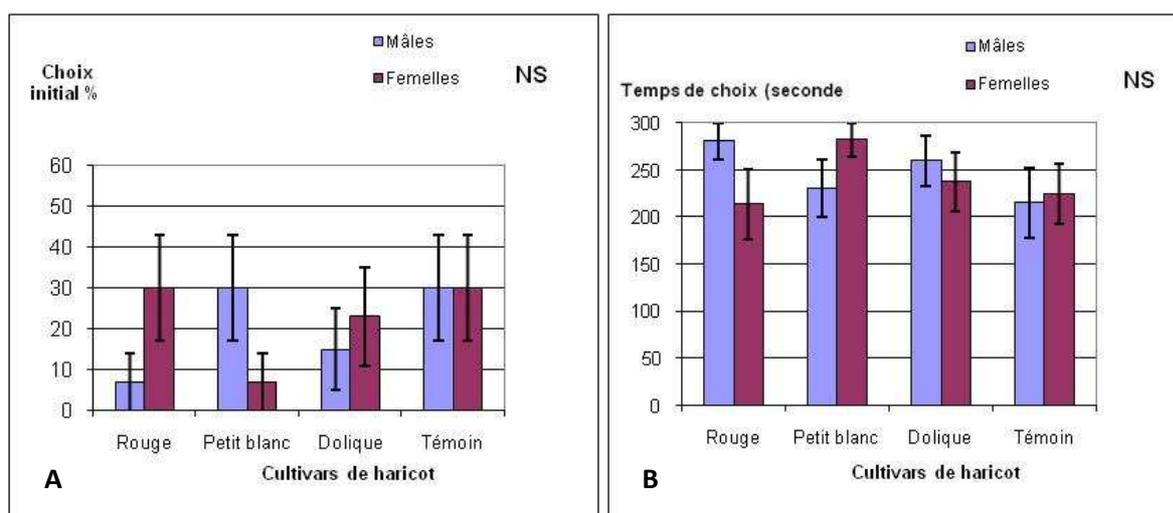


Figure 39. Pourcentage du choix initial (A) et le temps de choix moyen (secondes) (B) des mâles et femelles gravides d'*A. obtectus* en olfactomètre à quatre choix.

3.3. Analyse des composés organiques volatils

Les COVs des graines des cultivars rouge, niébé, témoin, petit blanc, brun moucheté et jaune moucheté sont collectés en utilisant la méthode HS-SPME et identifiés par GC-MS. Un total de 34 COVs est détecté sur l'ensemble des cultivars étudiés (Tab. 21). Le nombre de COVs identifiés est de 33 pour le témoin et le jaune moucheté, 32 pour le petit blanc, brun moucheté et le niébé contre 29 COVs chez le cultivar rouge. En considérant l'ensemble des cultivars, les plus abondants COVs sont : pentanal, pentanol, 2-hexenol, hexanol, alpha pinene, benzaldehyde, beta pinene beta myrcene, limonene, benzyl alcool, linalool, thujone, phenylethanol, nerol, citronellol, carvone et isomères de farnesene et la figure 40 met en évidence les différences qualitatives et quantitatives pour les dix plus abondants COVs émis par les graines.

Des différences qualitatives entre les cultivars sont reportées : pentanal, pentanol, 2 pentanone, benzyl alcool et 4-methyl 5-nonanol sont absents dans les graines du cultivar rouge alors qu'ils sont présents dans les graines du témoin et du niébé. Le benzyl alcool et le 4-methyl 5-nonanol sont absents chez le cultivar petit blanc ; 2 phenylethanol et cis 3 hexenol sont absents chez le cultivar brun moucheté. La majorité des composés volatils de ces graines de l'ordre de 24 COVs (70% approximativement) sont communs aux cultivars étudiés dont 18 COVs appartiennent aux composés chimiques terpéniques.

La principale différence qualitative est observée entre les graines de niébé, les cultivars brun et jaune mouchetés et le reste des cultivars : le principal composé identifié dans les émissions de ces graines est le pentanal dont les ratios varient entre 32,2 et 35,9 et qui est absent chez le cultivar rouge et présent en très petites quantités (composé mineur) chez le témoin et le petit blanc. Plus d'intérêt est porté sur les quantités relatives des principaux composés communs : linalool et limonène (Fig. 41) : le linalool constitue le composé majeur des émissions des haricots rouge (51,4), témoin (33,2) et haricot brun moucheté (35,4) alors qu'il est moins abondant dans les effluves des graines de niébé (15,3), petit blanc (19,7) et jaune moucheté (11,3). Le limonène est présent avec des quantités relativement importantes dans tous les cultivars notamment pour le niébé (26,6) et le petit blanc (28,1) sauf pour les haricots brun et jaunes mouchetés où les ratios sont de 3,8 et 8,4 respectivement.

La comparaison entre les ratios du linalool et limonène fait ressortir que le linalool est beaucoup plus présent chez tous les cultivars de *Phaseolus* sauf le petit blanc alors qu'il est faiblement représenté chez le haricot dolique.

Tableau 21. Pourcentages relatifs des COVs collectés par SPME (DVB/CAR/PDMS - 50/30 µm Supelco) à partir des grains de 5 cultivars de *P. vulgaris* et un cultivar de *V. unguiculata* identifiés par GCMS.

RI	COVs	Haricot rouge (n=2)			Haricot dolique (n=2) <i>V. unguiculata</i>			Haricot témoin (n=2)			Haricot petit blanc (n=2)			Haricot brun M (n=2)			Haricot jaune M (n=2)		
		Moy	± SE	O	Moy	± SE	O	Moy	± SE	O	Moy	± SE	O	Moy	± SE	O	Moy	± SE	O
690	Pentanal	-		0	31,6	± 3,5	2	2,4	± 3,4	1	8,7	± 2,8	2	35,9	± 12,4	2	30,2	± 13,2	2
718	Pentanol	-		0	1,0	± 1,3	1	1,0	± 1,0	2	0,1	± 0,1	1	0,7	± 0,5	1	0,2	± 0,0	2
729	2 pentanone	-		0	0,2	± 0,3	1	0,1	± 0,05	2	0,0	± 0,0	1	0,2	± 0,1	1	0,0	± 0,0	0
758	2 Me 1 butanol	0,01	± 0,02	1	0,1	± 0,01	2	0,4	± 0,6	1	0,2	± 0,0	2	1,4	± 0,5	2	0,1	± 0,0	2
808	2 hexenol	1,8	± 2,6	1	4,3	± 0,5	2	5,0	± 0,9	2	1,1	± 0,7	2	4,8	± 0,6	2	2,0	± 0,2	2
859	Cis 3 hexenol	0,02	± 0,04	1	0,7	± 0,1	2	0,2	± 0,3	1	0,0	± 0,0	0	0,0	± 0,0	0	0,0	± 0,0	1
869	Hexanol	0,1	± 0,1	1	1,8	± 0,8	2	2,3	± 1,6	2	0,9	± 0,1	2	1,1	± 0,5	2	1,8	± 0,9	2
942	Alpha pinene	0,3	± 0,2	2	0,9	± 0,2	2	1,8	± 1,5	2	0,4	± 0,1	2	0,5	± 0,2	2	0,3	± 0,1	2
968	Benzaldehyde	2,2	± 1,3	2	0,3	± 0,4	1	7,7	± 1,9	2	3,3	± 0,0	2	0,5	± 0,3	2	1,0	± 0,6	2
980	Trans 2 octenal	0,7	± 0,4	2	-		0	0,1	± 0,2	1	0,1	± 0,0	1	0,1	± 0,0	2	0,6	± 0,3	2
981	Beta pinene	2,0	± 1,4	2	0,7	± 0,2	2	0,8	± 1,2	1	1,2	± 0,1	2	0,1	± 0,0	1	0,2	± 0,1	2
993	Beta myrcene	0,4	± 0,2	2	1,0	± 0,6	2	0,1	± 0,2	1	0,5	± 0,0	2	0,2	± 0,1	2	0,6	± 0,3	2
1019	3 carene	0,2	± 0,1	2	0,3	± 0,04	2	0,4	± 0,3	2	0,2	± 0,0	2	0,3	± 0,2	1	0,1	± 0,0	2
1031	p-cymene	0,6	± 0,5	2	0,3	± 0,1	2	0,5	± 0,3	2	0,3	± 0,0	2	0,3	± 0,1	2	0,2	± 0,0	2
1037	Limonene	14,8	± 5,5	2	26,6	± 11,0	2	11,4	± 3,1	2	28,1	± 8,2	2	3,8	± 1,7	2	8,4	± 0,1	2
1042	Benzyl alcohol	-		0	0,5	± 0,7	1	2,6	± 1,6	2	0,2	± 0,2	1	0,8	± 0,3	2	0,0	± 0,0	1
1066	Terpinene	0,5	± 0,3	2	0,2	± 0,0	2	0,1	± 0,1	1	0,2	± 0,0	2	0,1	± 0,1	2	0,0	± 0,0	1
1106	Linalool	51,4	± 1,3	2	15,3	± 5,1	2	33,2	± 1,2	2	19,7	± 4,0	2	35,4	± 18,8	2	11,3	± 0,7	2
1117	Thujone	0,8	± 0,7	2	5,3	± 5,0	2	1,5	± 1,4	2	0,4	± 0,2	2	0,9	± 0,5	2	0,7	± 0,0	2
1125	2 phenylethanol	0,3	± 0,5	1	1,0	± 0,8	2	1,3	± 1,8	1	0,9	± 0,6	1	0,0	± 0,0	0	0,2	± 0,1	1
1155	4 Methyl 5 nonanol	-		0	0,1	± 0,1	1	0,6	± 0,4	2	0,0	± 0,0	0	0,2	± 0,1	1	0,0	± 0,0	1
1164	Nerol	1,3	± 1,9	1	0,6	± 0,9	1	0,8	± 0,7	2	0,8	± 0,2	2	0,0	± 0,0	2	0,8	± 0,2	2
1185	Menthol	0,4	± 0,1	2	0,4	± 0,0	2	0,7	± 0,2	2	0,7	± 0,1	2	0,4	± 0,2	2	0,2	± 0,0	2
1203	Terpineol	0,6	± 0,3	2	0,2	± 0,1	2	0,6	± 0,1	2	0,3	± 0,1	2	0,2	± 0,1	2	0,4	± 0,1	2
1208	Citronellol	7,4	± 3,5	2	4,6	± 2,8	2	12,1	± 0,6	2	6,2	± 1,2	2	4,5	± 0,1	2	3,1	± 0,1	2
1247	Anise aldehyde	0,5	± 0,2	2	0,3	± 0,4	1	1,6	± 0,01	2	0,8	± 0,1	2	0,2	± 0,1	1	0,3	± 0,2	1
1258	Carvone	5,2	± 7,3	1	0,1	± 0,2	1	0,7	± 0,2	2	19,8	± 12,0	2	0,1	± 0,0	2	34,4	± 11,8	2
1362	Sesquiterpene	0,6	± 0,1	2	0,1	± 0,1	1	0,2	± 0,3	1	0,2	± 0,2	1	0,1	± 0,1	1	0,1	± 0,0	2
1413	Alcohol	0,1	± 0,2	1	-		0	0,3	± 0,5	1	1,6	± 0,2	2	1,1	± 0,3	2	0,7	± 0,3	2
1418	Unknown compound	2,2	± 1,7	2	0,2	± 0,4	1	7,9	± 2,2	2	1,4	± 0,0	2	4,7	± 1,1	2	0,9	± 0,2	2
1443	Isomer of farnesene n°1	0,5	± 0,2	2	0,1	± 0,1	1	0,1	± 0,2	1	0,0	± 0,0	1	0,0	± 0,0	2	0,1	± 0,0	2
1452	Caryophyllene	0,9	± 0,5	2	0,1	± 0,0	2	0,3	± 0,4	1	0,2	± 0,1	2	0,0	± 0,0	1	0,0	± 0,0	1
1517	Isomer of farnesene n°2	3,7	± 1,9	2	0,3	± 0,4	1	0,9	± 1,3	1	1,2	± 0,5	2	0,6	± 0,1	2	0,8	± 0,5	2
1526	Isomer of farnesene n°3	0,4	± 0,4	2	0,8	± 0,4	2	-		0	0,2	± 0,1	1	0,9	± 0,6	1	0,4	± 0,2	2

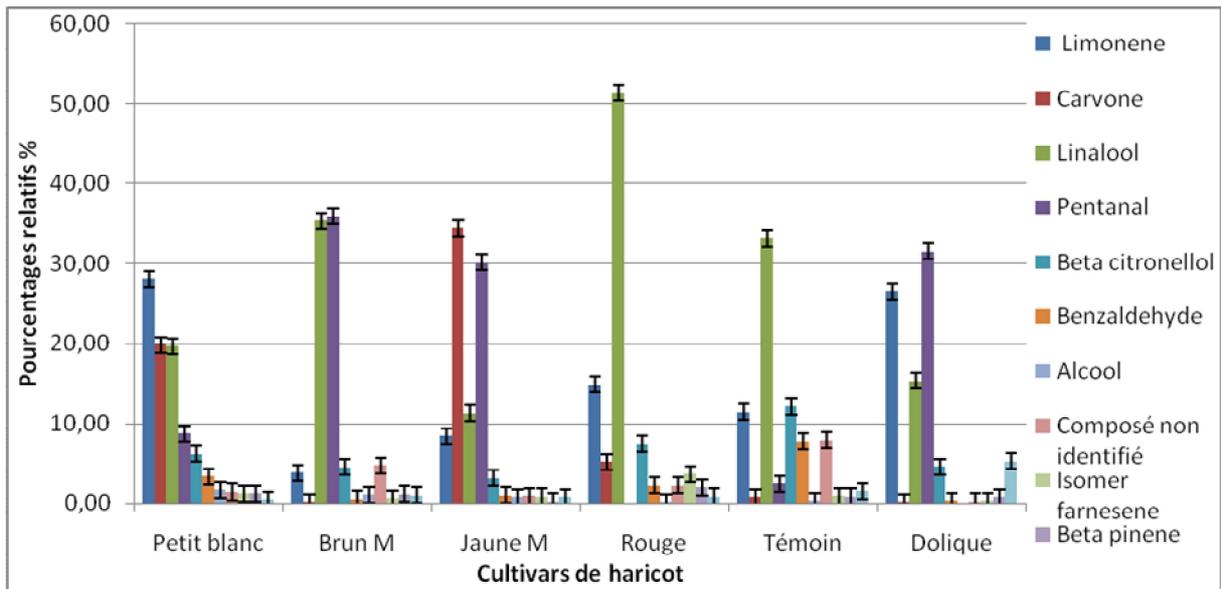


Figure 40. Pourcentages relatifs des 10 plus abondants COVs collectés à partir des graines des cultivars de haricot et identifiés par la méthode HS-GCMS.

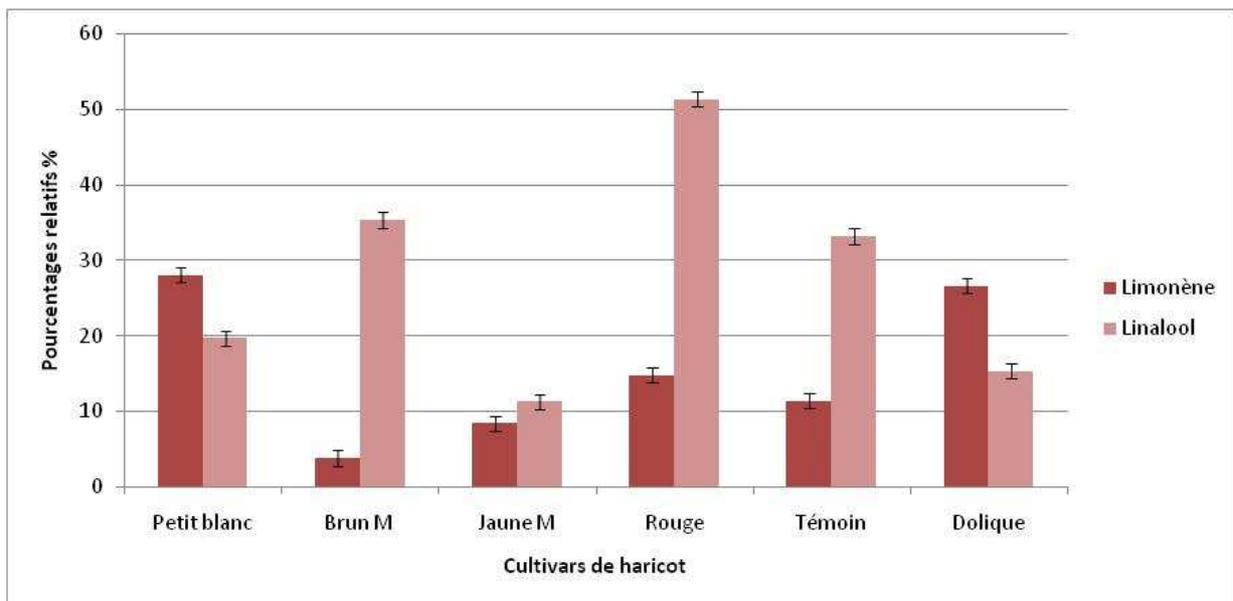


Figure 41. Les pourcentages relatifs du Linalool-limonène quantifiés dans les graines des cultivars de haricot par la méthode HS-GCMS.

Une analyse factorielle des correspondances est réalisée afin d'évaluer la contribution de chaque composé volatil (34) dans l'expression des odeurs des différents cultivars de haricots.

L'AFC fait ressortir quatre axes factoriels principaux dont les deux premières dimensions restituent 71,07% de l'inertie totale soit 43% pour l'axe horizontal et 28% pour l'axe vertical (Tab. 22 ; Fig. 42). Le premier facteur oppose clairement le cultivar jaune

moucheté (côté positif) qui présente une contribution de 0,88% avec une bonne représentation ($\cos^2 = 0,86$) aux cultivars témoin (-0,65) et rouge (-0,51) (côté négatif). Les COVs qui montrent les valeurs des pourcentages de contribution avec des \cos^2 élevés sont le pentanal (0,53), le carvone (1,03), Beta myrcene (0,32) du côté positif et le benzylaldehyde (-0,61), benzylalcool (-0,76), 4methyl 5nonanol (-0,78), caryophyllene (-0,74) et isomère de farnesene (-0,60) du côté négatif. Notons que le linalool se retrouve en quantités importantes dans les graines des cultivars témoin et rouge avec une contribution de -0,40% et un \cos^2 de 0,66 ; le citronellol (-0,38/ $\cos^2 = 0,68$) est également bien représenté chez les cultivars témoin, rouge et petit blanc.

L'axe 2 individualise les cultivars brun moucheté (0,57) et le niébé (0,53) (coté positif) avec des représentations excellentes (\cos^2 respectifs de 0,65 et 0,53 contre rouge (-0,36) et le cultivar petit blanc (-0,42) (côté négatif) avec les \cos^2 les plus élevés également. L'examen des données calculées fait apparaître d'excellentes représentations des COVs (côté positif) : pentanal (0,61), pentanol (0,61), pentanone (0,99), isomère de farnesene 3 (0,60) et thujone (0,67). Les COVs les mieux représentés sur le coté négatif sont le trans 2 octenol (-0,54), le carvone (-0,73), beta caryophyllene (0,61) et l'isomère de farnesene 2 (-0,52). Soulignons que les ratios du carvone sont plus élevés pour le cultivar jaune moucheté (34,4), petit blanc (19,8) et rouge (5,2) alors qu'ils sont négligeables pour les autres cultivars.

Ainsi, l'examen des proximités conduit à la distinction de 4 groupes : le groupe 1 représenté par le cultivar jaune moucheté qui s'oppose au groupe 2 représenté par les cultivars rouge et témoin qui ont montré une bonne attractivité des bruches lors des essais de comportement. Le troisième groupe est constitué des cultivars brun moucheté et niébé qui se sont montrés les moins attractifs pour les bruches notamment le niébé alors que le dernier groupe (4) se compose des cultivars rouge et petit blanc qui restent attractifs à relativement attractifs vis-à-vis des adultes de la bruche du haricot.

Tableau 22. Valeurs propres et pourcentages de variance de l'AFC cultivars/COVs

	F1	F2	F3	F4	F5
valeur propre	0,25	0,16	0,09	0,07	0,01
% variance	43,26	27,81	14,84	11,59	2,49
% Cumulé	43,26	71,07	85,91	97,51	100,00

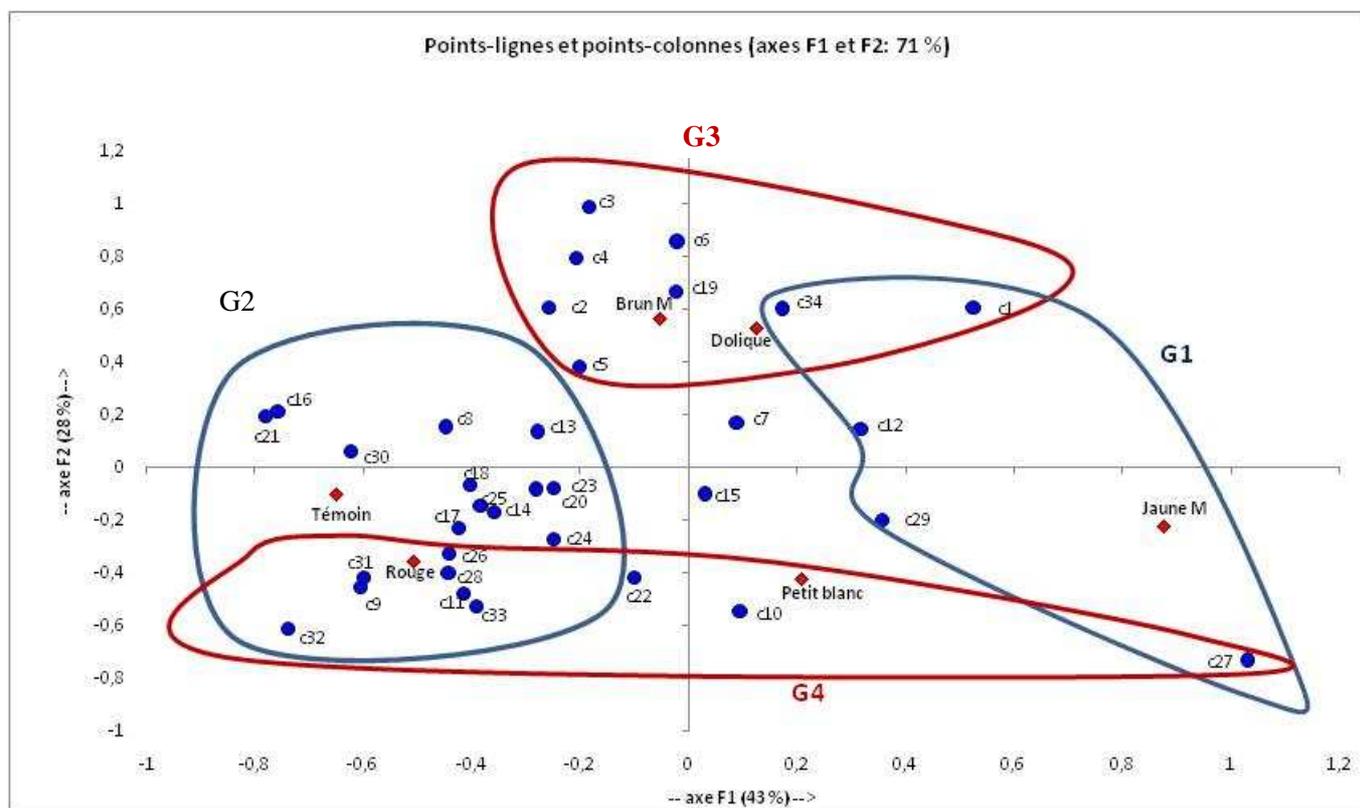


Figure 42. Représentation graphique des résultats de l'AFC sur les 5 cultivars de *Phaseolus vulgaris* et un cultivar de *Vigna unguiculata* et les 34 COVs identifiés par GC-MS

Discussion

Notre étude a comme objectif de déterminer quels sont les cultivars attractifs ou répulsifs aux mâles et femelles gravides d'*A. obtectus* et comment les COVs libérés par les graines peuvent-ils influencer les bruches dans leur choix et leur localisation. L'attractivité a été étudiée sur cinq cultivars de *P. vulgaris* et un cultivar de *V. unguiculata* dans des boîtes de Pétri (test de choix à courte distance) et dans un olfactomètre (air dynamique).

Le test de choix à courte distance a révélé que les mâles sont significativement plus attirés que les femelles par la plante hôte. Sur les cinq cultivars étudiés, seuls les cultivars rouge et blancs sont significativement attractifs pour les adultes mâles d'*A. obtectus* alors que les graines de niébé se sont montrées répulsives. Les cultivars de haricot brun et jaune semblent être attractifs aux mâles et aux femelles de la bruche mais statistiquement non différentes du témoin. Le temps de choix corrobore le choix initial des mâles et des femelles. Dans tous les cas, les adultes d'*A. obtectus* nécessitent la durée la plus courte pour sélectionner les cultivars les plus choisis. Les tests de choix en boîtes de Pétri sont des tests d'intervalle étroit (courte distance) associant, à la fois, des signaux visuels et olfactifs où les

signaux olfactifs reposent sur un gradient de concentration des effluves émis par les graines testées.

Ce résultat peut être expliqué par le fait que chez *A. obtectus*, ce sont les mâles qui émettent la phéromone sexuelle qui, une fois perçue par les femelles, elle favorise la rencontre des partenaires sexuels (Horler, 1970 ; Halstead, 1973 et Errard, 1981).

Le comportement de ponte de la bruche du haricot, en comparaison aux autres Bruchidae, montre plusieurs différences. Dans les lieux de stockage, les femelles n'attachent pas leur œufs individuellement à la surface des graines hôtes mais éparpillent de manière irrégulière sur ou bien entre les graines soit en amas ou singulières (Parson et Credland, 2003). Ceci peut suggérer que les mâles soient chargés de marquer les graines de haricot de sorte que les larves néonates mobiles soient attirées par les phéromones libérées par les mâles sur les graines. Chez *A. obtectus*, les larves nouvellement écloses sélectionnent les graines pour leur développement futur et cela pendant quelques heures ou quelques jours (occasionnellement) avant de pénétrer dans la graine (Thiéry et al., 1994 ; Parson et Credland, 2003).

De plus, il est bien connu que les mâles et les femelles des bruches ne se nourrissent pas de graines sèches de légumineuses puisqu'elles ne sont recherchées que comme sites de ponte. Bien que la sélection de l'hôte et la recherche des partenaires pour accouplement soient généralement considérées comme des événements très indépendants chez les insectes herbivores et par conséquent plus d'intérêt est porté sur le comportement des femelles dans la recherche de la plante hôte, il y a des indications que le comportement d'accouplement des mâles pourrait interagir avec les signaux émis par la plante hôte d'où les mâles pourraient influencer également la sélection de l'hôte (Duckworth, 2009 ; Thöming et al., 2013).

Généralement, ce sont les femelles qui sont concernées par le choix de la plante hôte à la recherche de sites de ponte adéquat afin d'assurer la survie à leur progéniture comme cela est suggéré dans la théorie de « *optimal foraging* » (Charnov, 1976). Des recherches réalisées sur certains Bruchidae montrent que la présence de graines ou de gousses de la plante hôte stimule, via les substances organiques volatiles émises, l'ovogénèse et la ponte. Cette régulation de la reproduction par les graines ou les gousses de la plante hôte est importante car elle permet l'émission des œufs sur le substrat nutritif des larves et assure la coïncidence spatiale entre le stade reproducteur et le stade consommateur (Pierre, 1980 ; Huignard et al., 1992).

Selon Ballhorn et *al.* (2013), les femelles sont plus sensibles aux variations des caractéristiques non volatiles de la plante (courte distance) telles que les produits primaires et les produits secondaires non volatils des plantes, la structure de la surface, la résistance des tissus, la teneur en eau, la taille et la couleur ; toutes ces caractéristiques réunies, affectent la valeur nutritive de la plante hôte.

Des différences dans les propriétés physiques et chimiques des graines des cultivars utilisées dans notre étude peuvent expliquer le comportement de choix des mâles et des femelles d'*A. obtectus*. En effet, l'aspect externe (couleur, rugosité, taille) peut influencer le comportement de la bruche. Ainsi, il a été reporté que les adultes d'*A. obtectus* sont plus attirés par les graines blanches ou de couleur claire (Zachriae, 1958 in Balachowsky, 1962). Dans notre étude, les adultes d'*A. obtectus* sont attirés par les graines claires puisque l'hôte préférentiel est le cultivar blanc mais aussi par les graine du cultivar rouge ; ce qui peut être expliqué par le fait que cette dernière présente une forme et une surface lisse semblable à celle de l'hôte préférentiel sauf que leur taille est petite. Nicole (2002) a rapporté que le comportement habituel des insectes, à la recherché des sites de pontes et d'alimentation, peut également être influencé non seulement par la perception de la couleur de la plante hôte et de sa forme, mais aussi par l'intensité spectrale ou la réflectivité. Par ailleurs, Szentesi (2003) a rapporté que les femelles de la bruche du haricot utilisent les graines différemment lorsqu'elles sont en présence de graines de différentes tailles et qu'elles pondent ainsi 2 à 6 fois plus d'œufs sur les graines de grande taille par rapport aux plus petites.

Lorsque des odeurs émanant des graines de cultivars de haricot sont présentées seules aux adultes d'*A. obtectus* dans l'olfactomètre, notre étude a montré que les mâles et les femelles sont attirés par les graines de haricot rouge, petit blanc et le témoin (blanc). Le niébé, par contre, s'est montré répulsif mais uniquement pour les femelles. Ce résultat confirme l'action répulsive du niébé déjà démontré lors du bio-essai précédent.

Le test en olfactomètre fournit ainsi des résultats différents, probablement liées au dispositif expérimental. Dans cette expérimentation, les facteurs visuels sont exclus puisque les adultes d'*A. obtectus* ne peuvent pas voir les graines de haricots qui leur sont présentées. Ainsi, les préférences, pour la plante hôte, des mâles et des femelles dans ce cas, semblent être liées aux cultivars de haricot et à leur composition spécifique en COVs. L'attractivité des ravageurs des stocks aux graines sèches de haricot grâce aux signaux olfactifs a été signalée dès 1938 par Larson et Fisher (1938) qui ont statué que 'les insectes sont principalement guidés vers les graines par l'odorat'.

Cependant, peu de travaux basés sur les stimulations par les COVs émis par les graines de haricots sont disponibles dans la littérature et ne sont pas toujours en accord avec nos résultats. En effet, Nazzi et *al.* (2008) ont rapporté que des graines saines de haricot (*P. vulgaris var cannellino*), qui n'ont pas été exposées aux adultes d'*A. obtectus*, sont attractives aux femelles et non pas aux mâles. Cependant, les auteurs ne précisent pas le statut physiologique des insectes étudiés (adultes fécondés ou non). Cette différence pourrait également être liée au fait que les cultivars utilisés ne sont pas les mêmes.

Dans l'olfactomètre à quatre voies, le stimuli est porté par le flux d'air chargé de COVs émis par les graines de haricots. Dans ce cas, le choix de l'insecte est dirigé par une réponse chimio-anémotactique et il n'y avait pas de repères visuels. Au cours de la localisation de l'hôte, les insectes utilisent des repères visuels, olfactifs et gustatifs et les signaux visuels permettent aux insectes de trouver la plante d'intérêt sur des courtes distances (Nicole, 2002). De nombreux insectes fécondés localisent et choisissent le site de ponte sur la base de signaux chimiques. Selon Mercier et *al.* (2013), les femelles des espèces dont la descendance est dans l'incapacité de choisir la plante hôte, soit par absence de mobilité, soit par une incapacité à survivre à l'extérieur du milieu de ponte, doivent faire le bon choix ; les substances chimiques produites par l'hôte végétal agissent sur la localisation du site de ponte, sa reconnaissance et son acceptation. D'après ces auteurs, ces signaux chimiques sont souvent les moteurs de la colonisation de l'hôte. Le rôle de l'olfaction dans la découverte de la plante hôte a été montré pour de nombreuses espèces d'insectes (Finch, 1980 ; Visser, 1986).

Sankara et *al.* (2012) ont montré que les femelles de quatre souches de la bruche du niébé *C. maculatus* localisent leur hôte en utilisant aussi bien les stimuli olfactifs (olfactomètre) qu'un complexe de stimuli visuels et olfactifs (dispositif tridimensionnel). Dans nos conditions expérimentales, même à courte distance, les repères visuels ne semblent pas être un facteur déterminant dans le choix de l'hôte.

Dans notre cas, la préférence est probablement due aux options de choix. Les femelles sont hautement attirées par le haricot rouge lorsque les combinaisons de choix sont haricot rouge versus haricot témoin, mais elles évitent hautement le haricot dolique lorsqu'il est présenté en présence du témoin. Le haricot dolique (*V. unguiculata*) est une autre espèce de haricot qui présente son propre ravageur *C. maculatus* ; elle n'est pas très sensible aux attaques d'*A. obtectus* mais celle-ci peut tout de même se développer normalement sur ses graines.

Des différences liées au sexe dans les réponses des insectes herbivores aux COVs émis par les plantes sont rapportées pour de nombreux insectes appartenant à des ordres variés tels que les Coléoptères (Ginzel et Hanks, 2005) et les Lépidoptères (Natale et *al.*, 2003). Dans notre étude, les mâles et les femelles peuvent discriminer les graines des cultivars étudiés. Les réponses asymétriques en fonction du sexe et du type de test de comportement pourraient être aussi le résultat des COVs libérés par les cultivars de haricot. Ballhorn et *al.* (2013) ont testé si les mâles et les femelles de deux espèces d'herbivores Chrysomélidées (*Gynandrobrotica guerreroensis* et *Cerotoma ruficornis*), des bruches oligophages qui se nourrissent sur le haricot lima (*P. lunatus*), peuvent utiliser les COVs pour localiser leur plante hôte à courte et longue distance. Ils ont rapporté que le sexe des bruches ainsi que les substances volatiles des plantes ont un effet significatif sur le comportement de recherche de l'hôte. Les femelles des deux espèces de bruches sont repoussées par les COVs libérés par les plantes par induction indépendamment du niveau d'induction des émissions de COVs; alors que les bruches mâles sont repoussées uniquement par les plantes dont les émissions de COVs sont fortement induites (produite en réaction au dommage ou au stress causé par les herbivores). La qualité de la plante, comme source de nourriture et d'espace libre de tout ennemi potentiel, est plus important pour les femelles que pour les mâles des insectes herbivores ; les mâles quant à eux sont beaucoup plus influencés par les COVs qui pourraient les aider dans la localisation d'éventuels partenaires sexuels. Thöming et *al.* (2014) ont trouvé que les mâles et les femelles de la tordeuse du pois *Cydia nigricana* (Lepidoptera, Tortricidae) peuvent discriminer les différents stades phénologiques du pois en relation avec les mélanges spécifiques d'odeurs qu'ils libèrent. Les plantes en pleine floraison ont constitué le stade phénologique le plus attractif aux femelles gravides enregistrant 58% d'atterrissage des adultes sur ces plantes dans les tunnels de vol, montrant au même temps les réponses d'atterrissage les plus élevées (56%) en présence des substances volatiles extraites par headspace des plantes au même stade phénologique. Au contraire, les mâles et les femelles vierges n'ont pas montré une préférence aussi prononcée pour un stade phénologique spécifique.

Le signal chimique émis par les cultivars de haricot est constitué de composés ubiquitaires avec des ratios spécifiques à chaque cultivar. Les cultivars étudiés partagent la majorité des COVs dont les plus représentés sont des terpènes. Cependant, des différences qualitative et quantitative sont mises en évidence conduisant à l'émission de signatures chimiques spécifiques ou très rapprochées. Lorsque nous comparons les ratios linalool-limonène, il ressort que d'une part, les cultivars attractifs, le rouge et le témoin, présentent

des ratios linalool-limonène similaires et avec le cultivar brun moucheté à un degré moindre ; d'autre part, les cultivars répulsifs pour *A. obtectus*, le niébé et le jaune moucheté à un degré moindre, montrent un ratio linalool-limonène inversé en plus d'un ratio élevé de pentanal. L'analyse statistique par AFC des données obtenues pour les trois cultivars uniquement à savoir le haricot témoin, le haricot rouge et le dolique a opposé nettement les effluves émis par le haricot dolique qui est répulsif à ceux libérés par les haricots rouge et témoin qui sont attractifs pour les adultes d'*A. obtectus* (Khelfane-Goucem et al., 2014). Cette étude a montré également des ratios linalool-limonène inverses entre les cultivars attractifs et répulsifs. Les ratios Linalool-limonène pourraient expliquer le choix de l'hôte par *A. obtectus*. Une attention particulière dans des études futures devrait cibler les composés candidats tels que le linalool, le limonène et le pentanal.

Oomah et Liang (2007) ont étudié les COVs des graines sèches des cultivars noir, rouge sombre et pinto de *P. vulgaris* utilisant les mêmes fibres SPME. Ils n'ont identifié que trois terpènes (α -pinène, 3-carène and limonène) alors que dans notre cas, en plus des trois composés terpéniques, l'analyse a révélé la présence de 15 autres terpènes parmi les COVs communs aux graines des cultivars rouge, témoin et dolique. Ainsi il est très difficile de comparer les résultats car les cultivars utilisés dans chacune des études ne sont pas génétiquement typés. Néanmoins, il est bien établi que chaque cultivar possède sa propre signature chimique.

Les composés volatils des plantes sont souvent des mixtures complexes contenant fréquemment plusieurs composés (Visser 1986; Fraser et al. 2003) et les mélanges sont constitués de composés ubiquitaires produits par de nombreuses autres plantes présentes dans l'habitat. D'après Bruce et al. (2005), la reconnaissance de la plante hôte dépend des ratios des substances volatiles des plantes et pas seulement de la détection de la présence ou l'absence d'un composé particulier. Nos résultats servent comme un nouvel exemple du rôle de la signature chimique de l'hôte dans le comportement de choix chez les insectes. Les graines des cultivars rouge, témoin et dolique libèrent des mélanges chimiques spécifiques et que le pentanal, le limonène et le linalool pourraient être des composés clés qui expliqueraient la résistance ou la sensibilité des espèces ou cultivars de haricot vis à vis d'*A. obtectus*.

A partir de nos résultats, il est très difficile de dessiner ou proposer un modèle de colonisation des grains de haricot, mais un scénario peut être proposé. Les mâles ont répondu positivement à tous les cultivars mais ont évité le haricot dolique. Les femelles ont répondu à

tous les cultivars y compris le dolique mais lorsque la stimulation est transmise par le flux d'air dynamique, elles ont évité le haricot dolique contrairement aux mâles. Ainsi, à la recherche des grains de haricot, les mâles n'arrivent pas à bien discriminer les haricots à longue distance alors que les femelles les distinguent. A courte distance, les mâles arrivent à mieux discriminer les grains des différents cultivars de haricot. Selon des études antérieures, les mâles émettent une phéromone sexuelle pour marquer les grains et par conséquent pourraient contribuer dans la localisation de l'hôte. A longue distance, les femelles gravides discriminent les espèces de haricot en ciblant beaucoup plus celles de *Phaseolus* spp.

Puisque les composés volatils des plantes jouent un rôle crucial dans la vie des insectes, ils peuvent constituer un outil utile et très intéressant dans les programmes de lutte intégrée contre les insectes ravageurs. Les kairomones sont aussi efficaces que les phéromones utilisées déjà depuis plusieurs années. La synthèse de composés volatils des denrées aurait moins de coûts que la synthèse de phéromones pures dans leur propre isomérisme d'où le piégeage des bruches des denrées stockées à l'aide des kairomones pourrait, aujourd'hui, constituer une solution des plus économiques et des plus efficaces dans les programmes de lutte (Ryne 1999). Les mâles mais surtout les femelles gravides d'*A. obtectus* utilisent des signaux chimiques dans la localisation de leurs hôtes, donc dans le choix du site de ponte pourrait faire appel à l'utilisation de substances répulsives dans la gestion intégrée de ces ravageurs dans les systèmes de stockages. Les composés candidats identifiés à partir des graines des cultivars de haricot pourraient également être utilisés, dans leur forme synthétique, comme attractifs dans les pièges dans la surveillance et le contrôle de ce ravageur nuisible des grains de haricot, *A. obtectus*, dans les entrepôts.

Des études supplémentaires doivent être entreprises afin de déterminer le rôle des composés candidats dans la sélection de la plante hôte par *A. obtectus* en conduisant des études comportementales et des enregistrements électrophysiologiques à partir des récepteurs olfactifs d'*A. obtectus* pour déterminer la perception de ces COVs candidats.

3.4. Biologie de la bruche sur les cultivars de haricot

Les résultats des différents paramètres biologiques de la bruche sont présentés dans le tableau 23. Globalement, il en ressort que les différents cultivars n'influent pas sur la longévité de la bruche ; les durées de vie des adultes semblent être comparables variant entre 13,2 et 14,2 jours pour les cultivars de *P. vulgaris* et elle est de 13,6 pour le cultivar de *V. unguiculata*.

L'analyse de la variance a révélé des différences significatives entre les cultivars pour la fécondité des femelles variant de 18,68 à 37,8 œufs/femelle pour les cultivars de *P. vulgaris* avec les valeurs les plus élevées pour les cultivars petit blanc (37,8 œufs/femelle) et brun moucheté (37,64 œufs/femelle). La fécondité la plus faible est enregistrée en présence des graines du cultivar de *V. unguiculata* (18,68 œufs/femelle). Cependant, la fertilité des œufs n'est pas influencée par les cultivars (différences non significatives) ; elle varie entre 67,76% et 83,02% pour les cultivars de *P. vulgaris* et il est de 73,02% pour le cultivar du niébé.

Des différences très hautement significatives entre les différents cultivars pour le paramètre viabilité des œufs (taux d'émergences) sont enregistrées. Celui-ci varie de 67,02 à 97,87% pour les cultivars de *P. vulgaris* alors qu'il n'est que de 66,46% pour le niébé.

Tableau 23. Moyennes (\pm Ecart Type) de la longévité des adultes, de la fécondité et de la fertilité des femelles et de la viabilité des œufs d'*A. obtectus* sur les graines des différents cultivars de haricot.

	Témoin	Rouge	Petit blanc	Brun moucheté	Dolique	Valeur P
Longévité (jrs)	14,2 \pm 0,5	14,2 \pm 0,5	13,2 \pm 0,5	13,6 \pm 0,57	13,6 \pm 0,57	0,71032NS
Fécondité/♀	25,2 \pm 2,9 ab	29,4 \pm 0,9 ab	37,8 \pm 0,64 a	37,64 \pm 0,75 a	18,68 \pm 0,42 b	0,02244*
Fertilité%	83,02 \pm 1,9	67,76 \pm 2,10	75,03 \pm 1,27	82,04 \pm 2,94	73,02 \pm 1,73	0,45914NS
Viabilité %	85,33 \pm 1,37 b	71,52 \pm 2,08 b	67,02 \pm 1,46 b	97,86 \pm 0,12 a	66,46 \pm 2,25 b	0,00062***
Durée du cycle (jrs)	29,2 \pm 0,5 bc	29,2 \pm 0,5 bc	29,8 \pm 0,5 ab	29 \pm 0 c	30,2 \pm 0,95 a	0,00059***

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque ligne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Les cultivars de haricot affectent significativement la durée du cycle d'*A. obtectus* où celui du niébé se distingue avec la durée la plus longue (30,2 jrs) comparé aux autres cultivars où le cultivar brun moucheté montre la durée du cycle d'*A. obtectus* la plus faible (29 jrs).

L'évaluation des paramètres agronomiques des graines de haricot sur les différents cultivars en présence de 5 couples d'*A. obtectus* est illustrée dans le tableau 24. Elle a montré une grande variation, statistiquement significative, des pertes en poids qui vont de 7,99% pour le niébé à 12,30% pour le cultivar brun moucheté. Par conséquent une variation importante est également observée pour la faculté germinative des graines : elle passe de 8,81% pour le cultivar brun moucheté et 61,40% pour le cultivar rouge et les autres cultivars ont des facultés germinatives comparables.

Tableau 24. Moyennes (\pm Ecart Type) de la perte en poids et du taux de germination des graines des différents cultivars de haricot infestées par 5 couples d'*A. obtectus*.

	Témoin	Rouge	Petit blanc	Brun moucheté	Dolique	Valeur P
Perte en poids%	9,57 \pm 0,28ab	8,87 \pm 0,35ab	12 \pm 0,71a	12,3 \pm 1,19a	7,99 \pm 0,54b	0,00695**
Germination%	45,13 \pm 0,85b	61,40 \pm 1,60a	37,99 \pm 1,68b	8,81 \pm 0,16c	40,65 \pm 1,6b	0***

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque ligne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Discussion

Notre expérimentation s'est déroulée à une température de 30°C et une hygrométrie de 75%, ainsi nous avons remarqué que la plupart des adultes meurent après le 10^{ème} jour de l'infestation, mais il y'a d'autres qui persistent jusqu'au 16^{ème} jour. Nos résultats sont similaires à ceux de Balachowsky (1962), qui a constaté que la longévité des adultes d'*A. obtectus* est de 10 jours à 30°C et 35 jours à 15°C.

Dans les stocks, les adultes ne se nourrissent pas de graines donc apparemment, le facteur variétal n'a pas affecté leur longévité. Cependant, Zaazou (1948) cité par Balachowsky (1962) a montré l'influence du régime alimentaire sur la longévité des adultes élevés dans différents substrats: solution sucrée (60 jours), miel (62 jours), eau (16 jours). Selon Herford (1935) cité par Balachowsky (1962), le meilleur milieu nutritif pour la bruche possède une forte teneur en glucides, mais la présence d'un alcaloïde ou de protides peut le

rendre inadéquat. Dans notre cas les adultes utilisés ont un même régime alimentaire, l'élevage de masse est effectué sur une seule variété (Rognon Blanc=Témoin). Bien que la longévité ne diffère pas statiquement entre les cultivars, ce sont le témoin et le rouge qui ont montré la longévité la plus élevée (14,2 jours) de même qu'ils ont montré plus d'attractivité pour les bruches dans les essais de comportement.

Les adultes utilisés dans notre expérimentation sont issus d'une même génération, d'un même élevage effectué sur le même cultivar (un même régime alimentaire) dans les mêmes conditions de température et d'humidité relative, la variation observée qui est statistiquement non significative serait probablement due aux facteurs internes liés au génotype de la bruche.

Très peu de différences sont enregistrées entre les graines de *P. vulgaris* montrant les valeurs de fécondité moyenne les plus élevées chez les cultivars petit blanc et brun suivis des cultivars rouge et témoin. Les graines de haricot commun constituent un site favorable pour la ponte d'*A. obtectus*. La sélection parmi différents types d'hôtes comme sites de ponte a été démontré pour un certain nombre d'espèces de Bruchidées soit présentés individuellement ou simultanément. Schoonhoven et *al.* (1983) ont observé des différences dans les préférences de ponte pour certains hôtes chez *A. obtectus* et *Z. subfasciatus*, lorsque les bruches sont présentées en conditions de choix ou de non choix à des lignées de *P. vulgaris* cultivées ou non.

Parson et Credland (2003) ont observé, chez *A. obtectus*, des résultats similaires ; des différences de fécondité minimales sont relevées entre les graines des cultivars rouge et blanc avec un taux de survie plus élevé chez le cultivar blanc. Les travaux de Damerджи et Bouklikha (2009) sur l'effet de quatre variétés de haricot sur la biologie d'*A. obtectus* ont montré que ce sont surtout les variétés rognon blanc et petit rognon blanc qui enregistrent les taux de fécondité et de fertilité les plus élevés attestant que la variété rognon blanc constitue le préféré alimentaire de la bruche du haricot. De même, Messina (1984) a montré que les femelles de *C. maculatus* évitent de pondre sur des graines de niébé ridées ou velues et Janzen (1977) a noté qu'elles rejettent complètement les graines de très petite taille lorsqu'elles sont présentées comme sites de ponte.

Selon Huignard (1971) cité par Righi-Assia (2010), en absence de graine, la ponte des œufs chez *A. obtectus* ne représente qu'un quart de l'effectif total des œufs pondus en présence de graines. Dans notre cas la quantité des graines utilisée pour chaque répétition (25g) semble être suffisante pour stimuler l'ovogenèse des femelles (5 femelles). Effectivement Jarry (1987) a constaté que pour une durée d'expérience de 5 jours en présence de graines, l'augmentation de la production ovarienne d'*A. obtectus* est très nette (elle est

multiplié par 3 environ), quasiment toutes les femelles pondent et il reste peu d'ovocytes en rétention. En absence de graines, la production reste au même niveau que pour les femelles immédiatement disséquées ou isolées en absence de graines. Righi-Assia (2010) a constaté que la présence continue de graines de pois chiche stimule l'ovogénèse et provoque une augmentation notable de la fécondité chez la bruche de pois chiche.

La différence de l'aspect morphologique des différents cultivars pourrait expliquer la variation de la fécondité moyenne d'*A. obtectus* pour chaque cultivar. Nous avons remarqué que les femelles ont pondu un nombre plus élevé d'œufs sur les différentes variétés de *P. vulgaris* que sur la variété de *V. unguiculata* utilisée ; cela peut être expliqué par la spécificité d'*A. obtectus* pour *P. vulgaris* mais aussi par l'émission du bouquet floral spécifique par les graines du niébé. Le cultivar *V. unguiculata*, quant à lui, est attaqué par une espèce spécifique de bruche à savoir *C. maculatus*. Cela n'exclut pas que les graines de niébé peuvent servir de site de ponte pour les femelles d'*A. obtectus* et provoquer des dégâts importants dans les stocks même si la graine seule ne stimule pas l'ovogénèse chez les femelles vierges, comme c'est le cas avec les graines de *P. vulgaris* (Jarry et Bonet, 1982). Ces derniers ont rapporté des faibles taux de pénétration des larves dans les graines de niébé lié entre autres à la nature de ses téguments. Des résultats similaires sont obtenus par Kellouche et al. (2004) qui ont constaté que les femelles de *C. maculatus* pondent un nombre plus élevé d'œufs sur les cultivars de *V. unguiculata* que sur ceux de *C. arietinum*.

Le taux d'éclosion, dans nos conditions expérimentales, est très important, environ 76% dans l'ensemble des cultivars étudiés et qui ne diffèrent pas significativement. Nos résultats sont similaires à ceux de Kassemi (2006) qui a constaté que le taux d'éclosion des œufs d'*A. obtectus* est important, il est d'environ 50%. Le taux d'éclosion n'est pas influencé d'une manière significative par les variétés de haricot infesté dans des conditions de 27°C et de 75% d'hygrométrie. Kellouche et al. (2004) ont remarqué aussi que le taux de survie de *C. maculatus* durant son développement embryonnaire est supérieur à 90% quel que soit le cultivar ou l'espèce végétale.

Nous avons estimé le taux de survie des œufs à 76%, nos résultats sont proches de ceux obtenus par Giga et Smith (1983) cité par Kassemi (2006), qui ont observé que le taux de survie de l'œuf de *C. maculatus* varie selon la température, il est de 87,7% pour la souche Brésilienne à une température de 30°C. Nous avons remarqué que les œufs non éclos (morts)

se déshydratent et se déforment avec le temps. Balachowsky (1962) a constaté que les œufs non fécondés s'aplatissent dans les 24 heures qui suivent leurs émissions.

Nous avons noté également que la totalité des larves issues des œufs éclos ne pourront pas toutes pénétrer dans les graines, un nombre de ces larves meurt à l'extérieur de la graine, ce nombre diffère selon la nature du tégument des graines de chaque variété. D'après Janzen (1977), le tégument des graines représente, tout d'abord, en raison de sa texture, une barrière mécanique assurant la protection de la graine contre diverses agressions (pénétration des larves, insectes, germes pathogènes) et contre la dessiccation.

Nous avons constaté aussi que certaines larves qui pénètrent dans la graine meurent et ne peuvent poursuivre leur cycle de développement lorsqu'il y a une grande compétition à l'intérieur de la graine ; selon Janzen (1977), le tégument empêche la sortie des larves quand il y a un surpeuplement important.

Le taux d'émergence varie d'une graine à l'autre et d'un cultivar à l'autre. Nous avons remarqué une répartition inégale d'individus dans les graines, il y a des graines qui ne présentent aucun trou, donc aucune émergence, alors que d'autres présentent jusqu'à 7 trous dans les cultivars brun moucheté et petit blanc. Selon Ahmed et al. (1989), la diminution du nombre de trous de sorties des adultes est le meilleur critère de résistance des graines.

Les taux d'émergence sont relativement élevés sur toutes les variétés, ils varient de 67,02 à 97,86% pour les différentes variétés de *P. vulgaris*. Le cultivar brun moucheté présente le taux le plus élevés tandis que le petit blanc enregistre le taux le plus faible. Les taux observés sur les différentes variétés de *P. vulgaris* sont élevés par rapport aux résultats obtenus dans d'autres études. Selon Kassemi (2006), le taux d'émergence varie de 25 à 45% pour deux variétés de *P. vulgaris* (marron et blanche). Seck et al. (1996) ont étudié la résistance de plusieurs variétés de *V. unguiculata* (20 cultivars différents) à l'égard de *C. maculatus* et ont observé des taux de réussite de développement très variables allant de 1,8 à 98,5%.

Le cultivar du niébé présente un taux d'émergence relativement élevé (66,46%) mais inférieur à ceux des autres variétés, ceci est dû à la spécificité d'*A. obtectus* aux cultivars de *P. vulgaris*. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Kellouche et al. (2004) qui ont constaté que l'émergence est significativement plus élevée pour *C. maculatus* lorsque son développement a lieu dans les graines de *V. unguiculata* que dans les graines de *C. arietinum*.

Ahmed et al. (1989) ont relevé que les cultivars à graines lisses et tendres sont plus sensibles aux attaques de *C. maculatus* que les cultivars à graines rugueuses et dures. Dans

notre cas les variétés utilisés sont toutes à graine lisse, cette caractéristique des graines n'influe pas sur la fécondité des femelles d'*A. obtectus* du moment que les femelles ne collent pas leurs œufs sur les graines comme celle de *C. maculatus*.

Le taux d'émergence peut nous renseigner sur la nature de la résistance biochimique du cultivar, en effet un taux élevé traduit une sensibilité, et un taux réduit traduit une résistance biochimique. Nous avons remarqué que l'ensemble des variétés de *P. vulgaris* présentent un taux d'émergence élevé (67,02 à 97,86%), nous pouvons conclure que l'ensemble des variétés utilisées présentent une sensibilité à l'égard d'*A. obtectus*, cette sensibilité diffère d'un cultivar à un autre. Le cultivar petit blanc est le moins sensible (de 62,07%) tandis que le cultivar brun moucheté est le plus sensible (97,02%). Celui de *V. unguiculata* présente le taux d'émergence le plus faible (66,46%) par rapport aux cultivars de *P. vulgaris* ; ce taux reste tout de même assez élevé et *A. obtectus* semble s'adapter à la variété de *V. unguiculata* utilisée.

Kellouche et al. (2004) ont constaté des taux semblables (62,7% à 66,4%) pour *C. maculatus* sur différentes variétés du niébé *V. unguiculata*. De même, Doumma et al. (2006) ont étudié l'incidence de 20 variétés de niébé sur le développement de *Bruchidius atrolineatus* et *C. maculatus* au Niger, ont montré que toutes les variétés sont infestées par les deux bruches montrant une activité de ponte et des émergences des adultes différents selon les variétés ; les plus vulnérables sur le terrain se sont montrées les plus infestées pendant le stockage.

Pour pouvoir estimer la durée totale du cycle du développement de la bruche dans chaque cultivar, nous avons additionné la durée d'incubation et la durée du stade larvaire L₁ avec la durée des différents stades cachés dans la graine pour chaque expérience.

A partir des résultats obtenus, nous avons pu distinguer deux catégories de cycles de développement pour la bruche sur les différents cultivars. La première, la plus courte, dure environ 29 jours pour les cultivars de *P. vulgaris* qui semblent être plus sensibles. La deuxième a une durée plus longue, d'environ 30 jours pour le cultivar de *V. unguiculata*.

Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par Damerdji et Bouklikha (2009) où le cycle le plus court (30 jours) est observé chez les variétés Rognon Blanc et Pinto alors que le plus long est noté chez le Petit Rognon Blanc (32jours). Dans notre cas, nous avons également enregistré le cycle le plus long au niveau des graines du cultivar petit blanc (29,8 jours) mais aussi chez celui du niébé (30,2 jours). Les travaux de Taheri (1996) cité par Kassemi (2006), ont montré que les durées de développement de la bruche de pois chiche *C.*

chinensis varient de 24 à 28 jours selon la variété étudiée, les cycles les plus courts sont obtenus avec les cultivars les plus sensibles.

Les pertes en poids sont liées à l'activité de la larve primaire issue de l'œuf qui pénètre dans la graine pour entamer son développement post embryonnaire, durant ce temps elle consomme les réserves contenues dans les cotylédons.

La variation des pertes en poids observée s'explique par la variation des émergences, elle-même liée aux degrés de la sensibilité des cultivars. En effet, ceux de *P. vulgaris* ont présenté un taux de perte considérable (8,87 à 12,30%) pour une première génération (F1) d'*A. obtectus*. Le plus grand taux de perte est observé (12,30%) dans le cultivar brun moucheté et correspond au nombre d'émergences le plus élevé dans la même variété. Le taux de perte le plus faible enregistré (7,99%) dans le cultivar du niébé correspond au plus petit nombre d'émergence observé dans la même variété. Nos résultats sont similaires à ceux de Diaw (1999) qui a constaté des taux de pertes en poids les plus élevés (63%) sur la variété LN11 de *V. unguiculata* présentant le plus grand nombre d'émergence (35 adultes) de *C. maculatus*. Le taux le moins élevé (21,6%) pour la variété LN9 qui a présenté le plus faible nombre d'émergence (21,6%).

En effet les travaux de Boughdad (1994) et Diaw (1999) ont montré que l'attaque par les bruches, d'une manière générale des graines de légumineuses, affecte significativement le poids des graines.

Selon Herford (1936) cité par Stamopoulos et Huignard (1980), les cotylédons sont très riches en glucides, protéines, et sels minéraux, ils contiennent également des hétéropolysaccharides, des phytohémagglutinines, des inhibiteurs de protéase et des acides aminés libres. Ces différents composés peuvent être dégradés par les larves d'*A. obtectus*, mais empêchent le développement d'autres Bruchidae.

La faculté germinative des graines saines des différents cultivars utilisés varie entre 80% et 85%, elle est presque la même pour tous les cultivars. La variation du taux de germination ne peut être expliquée que par l'influence des dégâts occasionnés par *A. obtectus* au niveau des graines. Nous avons remarqué que les cultivars qui ont un taux de perte en poids considérable présentent un taux de germination faible. Notamment le brun moucheté qui a enregistré le taux de perte en poids le plus élevé (12,30%) a donné le taux de germination le plus bas (8,81%).

Selon Stamopoulos et Huignard (1980), à cause de l'absence de phagostimulants, la plantule est rarement consommée au cours du développement post-embryonnaire. Nous avons

remarqué que malgré la plantule soit indemne, le pouvoir germinatif des graines est souvent en relation avec le degré d'attaque de la bruche et le nombre de graines touchées.

En effet la faculté germinative la plus faible est enregistrée chez le cultivar le plus sensible (brun moucheté). Nous avons remarqué que la faculté germinative la plus élevée n'est pas notée sur la variété la moins sensible (niébé), cela est peut être du à la diminution du nombre des graines endommagées par la bruche sur cette variété. La variation du pouvoir germinatif pourrait être expliquée aussi par l'attaque des germes pathogènes qui trouvent un milieu favorable dans les graines touchées qui contaminent ensuite les graines juxtaposées, formant un milieu favorable au développement des champignons pathogènes qui accélèrent la détérioration du milieu. D'après Huignard et *al.* (2011), les attaques de la bruche provoquent des diminutions de la capacité germinative dues au développement abondant des moisissures dans les lieux de stockage.

Globalement, il ressort que les cultivars de haricot constituent l'hôte préférentiel d'*A. obtectus* comparé au cultivar de *V. unguiculata* qui s'est plutôt révélé répulsif. L'évaluation des paramètres de reproduction appuient les résultats obtenus dans l'étude du comportement de choix des adultes fécondés de la bruche puisque les taux de fécondité, de fertilité et de viabilité les plus faibles sont enregistrés sur les graines du niébé.

Parmi les cultivars de haricot commun et en considérant le taux de viabilité, le haricot brun moucheté, le témoin et le rouge semblent être les plus sensibles (ordre décroissant) à l'attaque d'*A. obtectus* ; le petit blanc est par contre le plus résistant. Ces résultats ne sont pas tous confirmés par l'analyse factorielle des correspondances qui met en évidence la relation entre la composition en COVs et les graines des différents cultivars. L'insecte se développe très bien sur les graines du cultivar brun moucheté alors que l'AFC place ce même cultivar dans le même groupe que le niébé. Le rapport Limonène-Linalool qui est inversé pour le niébé comparé aux cultivars de *P. vulgaris* semble être à l'origine de l'attractivité de ces derniers.

Ce travail de recherche a permis d'apporter une contribution à l'étude de la biologie de la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* et fournit un ensemble d'éléments qui pourraient servir d'appui pour trouver des alternatives à la lutte par les insecticides chimiques contre ce ravageur potentiel des grains de haricot dans les stocks.

Les résultats des expérimentations menées sur la biologie de la bruche du haricot ont permis de distinguer quatre stades distincts chez *A. obtectus* : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago. La durée du cycle de développement, depuis l'œuf jusqu'à l'adulte, est d'environ 30 jours dans les graines de *P. vulgaris*. L'incubation dure 6 jours et au moment de l'éclosion, la larve néonate, mobile, déchire le chorion de l'œuf pour sortir à la recherche d'une graine adéquate pour y pénétrer dans les 24 heures suivantes. Il a été observé que beaucoup de larves profitent des trous forés par leurs congénères, mais leurs galeries vont rapidement diverger à l'intérieur de la graine.

Une fois que la larve L₁ est à l'intérieur de la graine (2 jours), elle mue pour la première fois et se transforme en une larve morphologiquement très différente, très arquée et apode de type L₂ (3 à 4 jours). Les 3^{ème} et 4^{ème} stades larvaires durent respectivement 4 et 6 jours et le stade nymphal s'étale sur 8 jours et aboutit à des imagos qui sortent par des opercules préparés par les larves.

Nos résultats montrent qu'effectivement les poudres de Lamiacées (thym, sauge, menthe et basilic) exercent une activité insecticide sur *A. obtectus* notamment sur la viabilité des œufs (thym et basilic). Cependant, les poudres de Légumineuses montrent un effet létal le plus élevé sur les adultes de la bruche du haricot au même temps qu'un effet inhibiteur maximal de la reproduction notamment pour le robinier et le genêt. Leur effet est comparable à celui du thym et du basilic sur la viabilité des œufs. Très peu d'études ont testé des poudres de légumineuses sur les insectes phytophages des denrées stockées.

Il faut également signaler que malgré que les poudres de légumineuses soient très pauvres en huiles essentielles, celles-ci pourraient jouer un rôle de synergie avec les autres composés notamment les polyphénols. La richesse en composés polyphénoliques pourrait être à l'origine de l'efficacité des poudres de légumineuses sur *A. obtectus*.

De plus, les résultats des bioessais ont montré que les poudres des plantes jouent un rôle important dans la protection de la faculté germinative des graines tout en réduisant leur perte proportionnellement aux doses utilisées. Les poudres de robinier, genêt, eucalyptus et laurier montrent des pourcentages de pertes les plus faibles variant de 0,6% à 2,9% alors que la

poudre de fève exhibe une perte en poids de l'ordre de 11,47%. La meilleure protection est assurée à la plus forte dose (5%) par les poudres de robinier (93%), de petit pois (90%), de genêt (82%), de fève (81%) et de basilic (81%) ; la poudre des feuilles du laurier noble a montré le taux de germination le plus faible (68%).

Les huiles essentielles de 9 plantes aromatiques que nous avons testées par contact semblent avoir toutes un effet toxique sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*. Les plus efficaces restent celles de *Citrus bergamia*, *Thymus satureioides*, *Mentha piperita* et *Laurus nobilis*. Par contre les huiles essentielles les moins efficaces sur la durée de vie des adultes d'*A. obtectus* sont celles du citronnier *Citrus limon* et surtout du cèdre *Cedrus atlantica*.

Si les huiles essentielles de bergamote, thym, menthe poivrée et laurier noble ont manifesté un effet létal considérable sur les adultes d'*A. obtectus*, celles du laurier noble, d'eucalyptus, du mandarinier, de la lavande et du cèdre ont surtout réduit la fécondité dans un ordre décroissant. Les huiles essentielles les plus toxiques sur les adultes d'*A. obtectus* sont également les plus inhibitrices de la reproduction ; la réduction de la fécondité des femelles résulte de la réduction de la longévité des adultes. Comme les poudres, les huiles essentielles assurent également la protection des graines en préservant leur faculté germinative et leur poids.

Les résultats des traitements par inhalation ont montré qu'en dehors de l'huile essentielle de bergamote qui s'est montrée efficace à des doses faibles, les huiles de Rutacées semblent agir faiblement sur la longévité des adultes de la bruche du haricot. Parmi les Lamiacées, l'huile essentielle de thym s'est avérée la plus efficace ; les moyennes de mortalité augmentent avec l'augmentation de la dose et de la durée d'exposition pour toutes les huiles testées.

Le calcul du pourcentage de répulsion par la méthode de Mc Donald et *al.* (1970) a permis de constater que les huiles essentielles de *Laurus nobilis*, *M. piperita*, *L. angustifolia*, *C. reticulata* et *C. aurantium bergamia* sont répulsives avec des taux respectifs de 73,75%, 71,25%, 63,75%, 63,75% et 61,87% et celles de *T. satureioides* (53,75%), *E. globulus* (51,25%) et *C. limonum* (43,75 %) sont moyennement répulsives. L'huile essentielle de *C. atlantica* est modérément répulsive montrant le pourcentage de répulsion le plus faible (31,25%).

L'attractivité des adultes d'*A. obtectus* pour les graines de 5 cultivars de *P. vulgaris* et un cultivar de *V. unguiculata* a été étudiée dans des boîtes de Pétri (air statique). Les cultivars de haricot : rouge, petit blanc, brun moucheté, jaune moucheté et celui du niébé sont testés dans un olfactomètre à quatre voies (air dynamique). Des différences de comportement entre les mâles et les femelles ont été enregistrées, ainsi que des différences de réponses suivant les types de tests. Les mâles sont plus attirés que les femelles dans les tests en atmosphère statique, surtout par les cultivars rouge et blanc, alors que les graines de niébé se sont montrées moins attractives pour les femelles.

L'olfactométrie en air dynamique produit des résultats différents avec une bonne réponse des femelles stimulées par les graines des cultivars, rouge et contrôle. Le niébé n'est pas du tout attractif pour les femelles. Les composés organiques volatils (COVs) émis par le cultivar attractif rouge, le niébé ainsi que le témoin ont été identifiés par HS-GCMS et l'analyse a révélé la présence de 33 et 32 composés volatils chez les graines du témoin et du niébé contre 29 chez le cultivar rouge.

Les mélanges de composés organiques volatils émis par les cultivars sont principalement constitués par des composés terpéniques avec des ratios spécifiques pour chaque cultivar. La comparaison du ratio linalool-limonène pour les cinq cultivars suggère l'émission d'un signal chimique spécifique. Les graines de niébé émettent une faible quantité de linalool alors qu'il est majoritaire chez les cultivars, rouge et témoin. Les graines de niébé sont aussi caractérisées par la présence de pentanal comme composé principal, qui est absent chez le cultivar rouge et présent en petites quantités chez le témoin. Ces différences qualitatives et quantitatives de la composition des composés organiques volatils COVs pourraient expliquer le comportement de choix de la bruche du haricot qui est discuté dans un contexte biologique et comportemental.

L'ensemble des résultats obtenus lors de ce travail pourrait constituer des solutions alternatives ou complémentaires à l'utilisation des pesticides organiques de synthèse pour la protection des grains stockés de haricot. Le développement de bioinsecticides extraits de plantes et la sélection de cultivars résistants à ce ravageur s'inscrit dans le cadre de l'agriculture et du développement durable. L'Algérie recèle une flore abondante et diversifiée susceptible de fournir de nouvelles sources de composés d'origine végétale à propriétés phytopharmaceutiques.

De nombreuses perspectives de recherche peuvent être dégagées de notre travail notamment, l'extraction des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques locales et l'identification de leurs principes actifs. Il serait également intéressant d'évaluer l'activité insecticide des composés majeurs des huiles essentielles sur la bruche du haricot et leurs effets synergiques ou antagonistes.

Concernant l'étude des composés organiques volatils des cultivars de haricot, il serait intéressant de tester les COVs candidats présents dans les graines des cultivars étudiés soit seuls ou en combinaison sur des femelles fécondées d'*A. obtectus* et d'effectuer des enregistrements électrophysiologiques sur les antennes des adultes d'*A. obtectus* afin de déterminer quels sont les composés volatils qui influencent le comportement de choix des mâles et des femelles de la bruche pour les différents cultivars de haricot.

1. **Aggarwal K.K., Tripathi A.K., Ahmad A., Prajapati V., Verma N., Kumar S. 2001.** Toxicity of L-menthol and its derivate against four storage insects. *Insect Sci. Appl.* 21 : 229-235.
2. **Ahmed K., Khalique F., Afzali M., Malik B.A. 1989.** Variability in chickpea (*Cicer arietinum* L) genotypes for resistance to *Callosobruchus maculatus* F. (Bruchidae). *J. Stored. Pro. Res.* 25(2): 97-99.
3. **Aiboud K., 2011.** Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de *Vigna unguiculata*. Mémoire de Magister en sciences Biologiques. U.M.M.T.O. 58p.
4. **Alvarez N., Hossaert-McKey M., Rasplus J.Y., McKey D., Mercier L., Soldati L., Aebi A., Shani T., Benrey B. 2005.** Sibling species of bean bruchids: a morphological and phylogenetic study of *Acanthoscelides obtectus* Say and *Acanthoscelides obvelatus* Bridwell - *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 43: 29-37.
5. **Alvarez N., Romero Napoles J., Anton K.W., Benrey B., Hossaert-McKey M. 2006.** Phylogenetic relationships in the Neotropical bruchid genus *Acanthoscelides* (Bruchinae, Bruchidae, Coleoptera). *Jounal compilation. Blackwell Verlag, Berlin JZS* 44(1): 63-74.
6. **Anonyme 2011.** Rapport de conjoncture du secteur du commerce au titre du 1^{er} semestre de l'année 2011. Régulation du marché et observation des prix des produits de première nécessité et stratégiques, Ministère du Commerce, 13p.
7. **Ansari M.A., Vasudevan P. Tandon M., Razdan RK. 2000.** Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresour. Technol.* 71 : 267-271.
8. **Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Mahari S. 2006.** Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agro. Soc. Environ.* 10(2): 67-71.
9. **Aubineau M., Bermond A., Bongler J., Roger-Estrad J. 2002.** Larousse agricole. Larousse/VUEF. Canada, p. 379.

10. **Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu S., Ozturk I. 2010.** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*. 10(21):1 41.
11. **Baba Aissa F. 2011.** Encyclopédie des plantes utiles. Flore méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale ; substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident. Eds. El Maarifa, Alger, 471 p.
12. **Balachowsky A.S. 1962.** Entomologie appliquée à l’agriculture, les Coléoptères. Ed. Masson et Cie, Paris. T1, 564p.
13. **Baldin E.L.L., Lara F.M. 2008.** Resistance of stored bean varieties to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera : Bruchidae). *Insect Science*. 15: 317-326.
14. **Baki M.A., Akhtar N., Rahman M.M., Islam M.N., Hossain M., Islam N., Alam M.K., Islam R., Khautun N.A., Mondal K. 2005.** Synergetic action of *Wedelia calendulacea* Less. Plant extracts with Lamda Cyhalothrin on adult red flour beetle *Tribolium castaneum* Herbst. *J. Agron*. 4: 18-22.
15. **Baudoin J.P. 2001.** Contribution des ressources phylogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 5(4) : 221-230.
16. **Baudoin J.P., Demol J., Louant B.P., Maréchal R., Mergeai G., Otoul E. 2002.** Amélioration des plantes : Application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Les Presses Agronomiques de Gembloux, Belgique, 580 p.
17. **Bellakhdar J. 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Le Fenec, Casablanca, 477p.
18. **Bernal G.R., Graham P.H. 2001.** Diversity in the rhizobia associated with *Phaseolus vulgaris* L. in Ecuador, and comparisons with Mexican bean rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 526–534.
19. **Bernays E.A., Chapman R.F. 1994.** Host plant selection by phytophagous insects. Ed. Chapman & Hall. 312 p.
20. **Blackwell A., Stuart A.E., Estambale B.A. 2003.** The repellent and antifeedant activity of oil of *Mirya gale* against *Aedes aegypti* mosquitos and its enhancement by the addition of salicylic acid. *Proc. Roy Coll. Phys*. 33: 209-214.
21. **Bonnemaison L. 1962.** Les ennemis animaux des plantes cultivées et des forêts. Ed. SEP, Paris, pp. 503 p.

22. **Borowiec L. 1987.** The genera of seed beetles. *Polskie Pismo Entomologiczne* 57 : 3-207.
23. **Bouchikhi Tani Z. 2006.** Bio efficacité de la substance des feuilles de deux variétés de haricot *Phaseolus vulgaris* sur les différents états et stades de développement de la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae). Mémoire Magister en Biologie. Option Ecologie Animale. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen. 87p.
24. **Bouchikhi Tani Z. 2011.** Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen. 147p.
25. **Bouchikhi Tani Z., Hassani F., Khellil M.A. 2008.** Bioefficacy of essential oils extracted from *Rosmarinus officinalis* and *Artemisia herba-alba* towards the bruche bean *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of a Pure and Applied Microbiology* 2(1): 165-170.
26. **Bouchikhi Tani Z., Bendahou M., Khellil M.A. 2010.** Lutte contre la bruche *Acanthoscelides obtectus* et la mite *Tineola bisselliella* par les huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques d'Algérie. *Lebanese Science Journal*(11)1 : 55-68.
27. **Boudarene L. Rahim L., Baaliouamer A., Ymeklati B. 2002.** Analysis of Algerian essential oils from twigs, needles and wood of *Cedrus atlantica* Manetti by GC/MS. *Journal of Essential Oil Research* 16 (6): 531-534.
28. **Boudjenouia A., Fleury A. 2002.** Situation des légumineuses alimentaires dans les espaces agricoles urbains et périurbains de Sétif : analyse d'une marginalisation. Actes du Séminaire National sur les Légumineuses Alimentaires. Hammam Bouhadjar 10 au 12 Mai 1998, pp. 1-10.
29. **Boughdad A. 1994.** Statut de nuisibilité et écologie des populations de *B. rufimanus* (Boh.) sur *Vicia faba* L. au Maroc. Thèse d'Etat Es Scineces, Univ. De Paris Sud Orsay, 182p.
30. **Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N. S., Abrini J. 2006.** Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Congrès international de biochimie*, Agadir, pp. 324- 327.

31. **Brink M., Belay G. 2006.** Céréales et légumes secs. *Ressources Végétales de l'Afrique Tropicale, PROTA*, Vol. 1, 327p.
32. **Brown M., Herbert A.A. 1997.** Insect repellents: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 36: 243-249.
33. **Bruce T.J.A., Wadhams L.J., Woodcock C.M. 2005.** Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science.* 10(6): 269-274.
34. **Bruneton J. 1993.** Eléments de phytochimie et de pharmacologie. 2^{ème} Ed. Lavoisier, Paris, 916 p.
35. **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec. & Doc., Paris. 1268p.
36. **Brzostek G., Ignatowicz S. 1990.** The role of a pheromone-like substance deposited on beans by the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera, Bruchidae). *Polskie Pismo Entomologiczne* 60: 237-250.
37. **Bulter M.J., Day A.W. 1998.** Fungal melanins. *Canadian Journal Microbiology* 44: 1115-1136.
38. **Calet C. 1992.** Les légumes secs, Apport protidique. *Cah. Nut. Diét.* 2 : 99-108.
39. **Chalchat J.C., Garry R.P., Michet A., Benjilali B. 1994.** Essential oil components in sawdust of *Cedrus atlantica* from Morocco. *Journal of essential oil research* 6(3): 323-325.
40. **Chambers J. 1990.** Overview on stored-product insect pheromones and food attractants. *Journal of the Kansas Entomological Society.* 63: 490-499.
41. **Charnov E.L. 1976.** Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theor Popul. Biol.* 9: 12-136.
42. **Chaudhary A., Sharma P., Nadaa G., Tewary D.K., Singh B. 2011.** Chemical composition and larvicidal activities of the Himalayan cedar, *Cedrus deodora* essential oils and its fractions against the diamondback moth *Plutella xylostella*. *Journal of Insect Science* 11(157): 1-26.
43. **Chaux C.L., Foury C.L. 1994.** Production légumière. Tome III. *Légumineuses potagères, légumes fruits*. Edition Lavoisier. Paris. 854p.
44. **Chen M.S. 2008.** Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science* 15: 101-114.

45. Chiasson H., Beloin N. 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides «nouveau genre ». *Antennae . Bulletin de la société d'entomologie du Québec* 14(1): 3-5.
46. Clément J.M. 1981. Les agrumes. Librairie Larousse, Paris, pp. 36-37.
47. Credland P.F. 1990. Biotype variation and host change in Bruchids :causes and effects in the evolution of bruchid pests. *Bruchids and Legumes : Economics, Ecology and Coevolution*. Ed Kluwer Academic publishers, Dordrecht, Pays-Bas. pp. 271-287.
48. Cronquist A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. *New York Columbia University Press*. 1262 p.
49. Dagnelie P. 1975. Théories et méthodes statistiques. Les presses agronomiques de Gembloux, 2 : 245-249.
50. Damerdji A., Bouklikha A. 2009. Effet de quatre variétés de haricot sur la durée du cycle de développement de la bruche *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae). *Rev. Ivoir. Sci. Technol.* 14: 161-173.
51. Debazac E.F. 1991. Manuel des conifères. Ed. E-F Debasac, 172p.
52. Decelle J. 1981. Bruchidae related to grain legums in the afro-tropical area. *Series Entomological* 19: 617-636.
53. Diaw S.C. 1999. Evaluation de la résistance variétale du niébé *Vigna unguiculata*. a *Callosobruchus maculatus* L. Mém. D'Ing. En production végétale. Ecole Nat. Sup. Agro. Sénégal. 58p.
54. Dorée A. 2000. Flore pastorale de montagne : Graminées, Légumineuses et autres Plantes Fourragères. Vol. 2. Ed. Quae, 227 p.
55. Doumma A., Liman A.I., Toudou A., Alzouma I. 2006. Comportement de vingt variétés de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) via-à-vis de *Bruchidius atrolineatus* (Pic) et *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). *Cahiers Agricultures* 15(2): 187-193.
56. Duckworth R.A. 2009. The role of behaviour in evolution : a search for mechanism. *Evol. Ecol.* 23: 513-531.
57. Dunggelhoff S., Schmitt M. 2006. Fonctionnal morphology of copulation in Chrysomelidae-Criocerinae (Insecta: Coleoptera). 6th International Symposium of the Chrysomelidae. *Bonner Zoologist Beitrage* 54: 201-208.
58. Dupriez H., De Leener P. 1987. Jardins et vergers d'Afrique. Ed. Terres et Vie. 354p.

59. Eleni M., Antonios M., George K., Alexio-Leandros S., Prokopios M. 2009. High quality bergamot oil from Greece: chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the West Nile virus vector. *Molecules* 14: 839-849.
60. Errard C. 1981. Effet du groupement sur l'attractivité des mâles d'*A. obtectus* dans certaines conditions expérimentales. *Biology of Behaviour* 6(3): 229-237.
61. FAO 2004. Perspectives de l'alimentation n° 2, une production mondiale, Département économique et social.
62. FAO 2006. <http://faostat> fao.org
63. FAO 2013. <http://faostat> fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx/PageID=567 #ancor.
64. Ferhad A., Hireche A. 2002. Conditions de relance du secteur des légumineuses alimentaires en Algérie. Actes du Séminaire National sur les Légumineuses Alimentaires. Hammam Bouhadjar 10 au 12 Mai 1998, pp. 11-31.
65. Fernandez M. 2003. Quelques plantes médicinales et leurs fonctions. Ed. Aenigma, 63p.
66. Finch S. 1980. Chemical attraction of plant feeding to plants. *Appl. Biol.* 5: 67-143.
67. Fraser A.M., Mechaber W.L., Hildebrand J.G. 2003. Electroantennographic and behavioral responses of the the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 29: 1813-1833.
68. Frénot M., Vierling E. 2001. Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant. Science des aliments. 2^{ème} Ed. Doin. pp: 79-102.
69. Gakura S., Buledi M.K. 1993. Effet comparé des poudres de *Nicotiana tabacum* L., *Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF et de l'huile de *Ricinus communis* L. sur la conservation des graines de *Vigna unguiculata* (L) WALP. *Tropicultura*. 13(2): 59-61.
70. Ghandi N., Pillai S., Patel P. 2010. Efficacy of pulverised *Punica granatum* (Lythraceae) and *Murraya koenigii* (Rutaceae) leaves against stored grain pest *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Int. J. Agric. Biol.* 12: 616-620.
71. Gilly G. 2005. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse : Botanique-Culture-Chimie-Production et marché. Ed. Harmattan, 418p.
72. Ginzel M.D., Hanks L.M. 2005. Role of plant host volatiles in mate location for three species of longhorned beetles. *Journal of Chemical Ecology* 31: 213-217.
73. Goix J. 1986. La bruche du haricot. *Phytoma* 382: 48-49.

74. **Gordon M. 2000.** Haricots secs : situation actuelle et perspectives. *Le Bulletin bimensuel*, 13 Octobre 2000, 13, 16. *Agriculture et Agro-alimentaire Canada*. 6 p.
75. **Gordon M. 2002.** Les légumineuses au Moyen-Orient et en Afrique du Nord. *Le Bulletin bimensuel*, 22 mars 2002, 15, 5. *Agriculture et Agro-alimentaire Canada*. 4 p.
76. **Grimmersoft 2004.** Stat Box version 6.5 Pro Copyright © 1993-2004, Grimmersoft, Paris France.
77. **Guéguen J., Lemarié J. 1996.** Composition, structure et propriétés physico-chimiques des protéines de légumineuses et d'oléagineux. In : *Protéines végétales*, B. Godon (ed.), Partie 3 : Propriétés biochimiques et physico chimiques des protéines végétales, Lavoisier, Paris, pp 80-119.
78. **Guignard J.L., Cosson L., Henry M. 1985.** Abrégé de phytochimie. Ed. Masson Paris, pp.155-174.
79. **Guignard J.L, Dupont F. 2004.** Botanique : systématique moléculaire. 13^{ème} Ed. Masson, Paris, 237p.
80. **Guy P. 1985.** Nutrition azotée des légumineuses. *Les colloques INRA 37*: 79-99. Versailles, France.
81. **Gwinner J., Hanisch R., Mück O. 1996.** Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH. Eschborn, R.F.A., 388p.
82. **Halstead D.G.H. 1973.** Preliminary biological studies on the pheromone produced by male *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera:Bruchidae). *J. Stored prod. Res.* 9: 109-117.
83. **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 biologiques, UMMTO, 94p.
84. **Harborne J.B. 1980.** Plant phenolics. In: *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, Vol. 8. Ed. Bell, E.A. and Charlwood B.V., Springer-Verlag, Berlin, 329p.
85. **Hassan Adeyemi M. M. 2011.** A review of secondary metabolites from plant materials for post harvest storage. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology* 6(2): 94-102.

- 86. Haubruge E.G., Lognay G., Marlier M., Dahnier P., Gilson J.C., Gaspar C. 1989.** The toxicity of five essential oils extracted from *Citrus* species with regards to *Sitophilus zeamais* Motsch (Col. Curculionidae), *Prostephanus truncates* Horn (Col. Bostrychidae) and *Tribolium castneum* Herbst (Col. Tenebrionidae). Meded. Fac. Landbouwwet Rijksuniv Gent, 54 (3b): 1083-1093.
- 87. 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. 1775 (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Univ. de Tizi-Ouzou, 99 p.
- 88. Hilker M., Meiners T. 2011.** Plants and insect eggs: how do they affect each other? *Phytochemistry* 72(13): 1612-1623.
- 89. Hoffmann A., Labeyrie V. 1962.** Les Bruchidae. In : Entomologie appliquée à l'agriculture. Ed. A.S. Balachowsky, Masson, Paris, pp. 434-484.
- 90. Horler DF. 1970.** (-)-Methyl n-tetradeca-trans-2 ,3 ,5-trienoate an allenic ester produced by the male died bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say. *Journal of Chemical. Society C*: 859-862.
- 91. Huignard J. 1969.** Analyse expérimentale de certains stimuli externes influençant l'ovogénèse chez *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae). In : L'influence des stimuli externes sur la gamétogénèse des insectes. *Colloques internationales du C.N.R.S.*, pp. 357-380.
- 92. Huignard J., Biémont J.C. 1979.** Vitellogenesis in *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera : Bruchidae). II. The conditions of vitellogenesis in a strain from Colombia. Comparative study and adaptive significance. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 1: 233-244.
- 93. Huignard J., Thibout E., Biémont J.C. 1986.** Synchronisation of the reproductive cycle of some phytophagous insects by their host plant. Its adaptive significance. In M. Porchet, JC Andries & A. Dhainaut (eds.): *Advances in Invertebrate Reproduction*. Elsevier, Amsterdam, pp. 425-432.
- 94. Huignard J., Tran B., Lenga A., Mandon N. 1992.** Inteaaction between host plant information and climatic factors on diapauses termination of two species of Bruchidae.

- Proc. 8th Int. Symp. Insect-Plant Relationships. Dordrecht : Kluwer Acad. Publ. S.B.J. Menken, J.H. Visser & P. Harrewijn (eds.), pp. 67-68.
- 95. Huignard J., Glitho I., Monge J., Regnault-Roger I. 2011.** Insectes ravageurs des grains de légumineuses, biologie des Bruchinae et lutte raisonnée en Afrique. Ed. Quae, France. 147p.
- 96. Idi A. 1994.** Suivi de l'évolution de la population des bruches (*Bruchidus atrolineatus* F., Coleoptera: Bruchidae) et de leurs parasitoïdes (*Dinarmus basalis* Rond, Hymenoptera: Pteromalidae; *Eupelmus villeti* CRW, Hymenoptera: Eupelmidae; *Uscana lariophaga*, Hymenoptera: Tricogrammatidae) dans les systèmes de stockage traditionnel de niébé (*Vigna unguiculata* Walp.) au Niger. Thèse Doc. Univ. Niamey, Niger. 100p.
- 97. I.T.G.C. 2008.** Données agricoles pour l'année 2007. Institut Technique des Grandes Cultures.
- 98. Janzen D.H. 1977.** How southern cowpea weevil larvae (Bruchidae: *Callosobruchus maculatus*) die on non host seeds. *Ecology* 58: 921-927.
- 99. Jarry M. 1987.** Dynamique de la contamination des graines de *Phaseolus vulgaris* par la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera : Bruchidae) dans un stock et migration des adultes hors de ce stock : quelques éléments pour la protection des cultures et des récoltes de haricot. In : Les légumineuses alimentaires en Afrique. Ed. Aupelf Pub : 230-237.
- 100. Jarry M., Bonet A. 1982.** La bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), est-elle un danger pour le cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Agronomie* 2(10): 963-968.
- 101. Jilani G, Saxena R.C. 1990.** Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and a neem based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera, Bostrychidae). *Journal of Economic Entomology* 83: 629-634.
- 102. Johnson C. D., Romero J. 2004.** A review of evolution of oviposition guilds in the Bruchidae (Coleoptera). *Revista Brasileira de Entomologia* 48(3): 401-408.
- 103. Johnson C. D., Southgate B.J., Delobel A. 2004.** A revision of the Caryedontini (Coleoptera: Bruchidae: Pachymerinae) of Africa and the Middle East. *Mem. Amer. Entomol. Soc.* 44: 1-120.

- 104. Kaloma A., Kitambala K., Ndjango N.L., Sinzahera U. et Paluku T. 2008.** Effet des poudres d'*Eucalyptus citriodora*, de *Cupressus lucitanica* et de *Tagetas minitiflora* dans la conservation du maïs (*Zea mays*) et du haricot (*Phaseolus vulgaris*) dans les conditions de Rethy (République démocratique du Congo). *Tropicultura* 26(1): 24-27.
- 105. Karci A., Isikber A. 2007.** Ovicidal activity of various essential oils against confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). Proceedings of the International Workshop on Food Safety in a Sustainable Postharvest System of Agricultural Products, October 16-18 2007, Kahramanmaras Sutcu Imam University, Kahramanmaras, Turkey, pp: 251-258.
- 106. Kasambala S., Hendry A.M. 1986.** Comment protéger les haricots en stock contre les charançons. CIAT 40, 1p.
- 107. Kassemi N. 2006.** Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte : cas de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*) (Coleoptera : Bruchidae). Mém. De Magister en Ecologie Animale, Univ. Tlemcen, Algérie, 93p.
- 108. Kéita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Ramaswamy S., Bélanger A. 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 36: 355-364.
- 109. Kéita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Arnason J.T. 2001a.** Insecticidal effects of *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Canadian Journal of Plant Science* 81(1): 173-177.
- 110. Kéita S. M., Vincent C., Schmit J., Arnason J. T., Belanger A. 2001b.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 37(2): 339-349.
- 111. Kellouche A. 2005.** Etude de la bruche du pois chiche, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte. Thèse. Doc d'état. Univ. Tizi-Ouzou, Algérie. 154p.
- 112. Kellouche A. et Soltani N. 2004.** Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles à l'égard de *Callosobruchus maculatus*. *International journal of tropical insect science* 24 (1): 184-191.
- 113. Kellouche A., Soltani N.D., Huignard J. 2004.** Activité de reproduction et capacité de développement de la descendance de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius)

- (Coleoptera : Bruchidae) dans des graines de différents cultivars de *Vigna unguiculata* (Walp.) et de *Cicer arietinum* (L.). *International Journal of Tropical Insect Science* 24 (4): 304-310.
- 114. Kergoat G.J. 2004.** Le genre *Bruchidius* (Coleoptera : Bruchidae). Un modèle pour l'étude des relations évolutives entre les insectes et les plantes. Thèse de doctorat en biologie. Université Paris 6. 167p.
- 115. Kergoat G.J., Alvarez N., Hossaert-McKey M., Faure N., Silvain J.F. 2005.** Evidence for a parallel evolution in the two largest seed beetle genera (Coleoptera : Bruchidae). *Mol. Ecol.* 14: 4003-4021.
- 116. Ketoh G.K. 1998.** Utilisation des huiles essentielles des quelques plantes du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat. Univ. Lomé, Bénin, 141p.
- 117. Ketoh G.K., Glitho I.A., Huignard J. 2002.** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* and its parasitoid *Dinarmus basalis* to three essential oils. *Journal of Economic Entomolog*, 95: 174-182.
- 118. Ketoh G.K., Glitho I.A., Koumaglo H.K. 2004.** Activité insecticide comparée des huiles essentielles de trois espèces du genre *Cympogon* (Poacées). *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.* 18: 21-34.
- 119. Khelfane-Goucem K., Medjdoub-Bensaad F., Leppik E., Frérot B. 2014.** Dry bean volatile organic compounds mediating host choice in *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Société Entomologique de France* (N.S.): *International Journal of Enyomology* 10p.
- 120. Khelil M.A. 1977.** Influence de la chaleur utilisée comme moyen de lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera : Bruchidae) sur les différents états et stades de développement. Thèse d'Ingénieur en Agronomie, INA., 77p.
- 121. Konstantopoulou L., Vassilopoulou L., Mauragani-Tsipidov P., Scouras Z.G. 1992.** Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of the essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *D. auraria*. *Experientia*, 48 (6): 535-619.

122. **Kumar P., Shukla R., Singh P., Singh A.K., Dubey N.K. 2009.** Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. *J. Sci. Food Agric.* 89: 2643-2649.
123. **Kumar P., Mishra S., Malik A., Satya, S. 2011a.** Insecticidal properties of *Mentha* species: a review. *Industrial Crops and Products* 34: 802-817.
124. **Kumar P., Mishra S., Malik A., Satya, S. 2011b.** Repellency, larvicidal and pupicidal activity of essential oils and their formulation against house fly (*Musca domestica* L.). *Medical and Veterinary Entomology* 25: 302-310.
125. **Labeyrie V. 1962.** Les *Acanthoscelides obtectus*. In : Entomologie Appliquée à l'Agriculture. Ed. A.S. Balachowsky. T1, Masson. Paris, pp. 469-484.
126. **Larson A.O., Fisher C.K. 1938.** The bean weevil and the southern cowpea weevil in California. United States Department of Agriculture, Washington, DC. *Technical Bulletin* 593: 1-70.
127. **Laumonier R. 1979.** Cultures légumières et maraîchères. Ed. J.B. Balliere, 273p.
128. **Lawrence J.F., Newton J.R.-A.F. 1995.** Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes, references and data on family group names). In: *Biology, Phylogeny, and Classification of Coleoptera*. (J. Pakaluk & S.A. Slipinski eds.) *Pap. Cel.* : 779-1006.
129. **Lorini I. 1998.** Contrôle integrado de pragas de graos armazenados. *Embrapa, Passo Fundo*, pp. 1-119.
130. **Loussert R. 1989.** Les agrumes : Production (2). Ed. Lavoisier. Paris, 157 p.
131. **Mathieu F. 1995.** Mécanismes de la colonisation de l'hôte chez le scolyte du café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera : Scolytidae). Thèse Doc. En Spectrochimie, Analyse Organique et Biologique, Univ. Paris VII. 133p.
132. **Matthews R.W., Matthews J.R. 1978.** Insect behavior. John Wiley & Sons, Inc. Newyork, Newyork. 507p.
133. **Mc Donald L.L., Guy R.H., Speirs R.D. 1970.** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. *Marketing Research Report*. n° 882. Washington: *Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture*. 183 p.
134. **Mediouni Ben Jemâa J., Tersim N., TalebToudert K., Larbi Khouja M. 2012.** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia,

- Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research* 48: 97-104.
- 135. Medjdoub-Bensaad F. 2007.** Etude bioécologique de la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (BOH. 1833) (Coleoptera : Bruchidae). Cycle biologique et diapause reproductrice dans la région de Tizi-ouzou. Thèse Doct. d'Etat en Ecol. Biol. des Populations, Univ. Tizi-ouzou, Algérie, 129p.
- 136. Medjdoub-Bensaad F., Khelil M.A., Huignard J. 2007.** Bioecology of broad bean bruchid *Bruchus rufimanus* Boh. (Coleoptera: Bruchidae) in a region of Kabylia in Algeria. *African Journal of Agricultural Research* 2(9): 412-417.
- 137. Mercier J.L., Errard C., Frérot B. 2013.** L'identité chimique des insectes. In : *Interactions insectes-plantes*. Ed.Quae. IRD, pp. 163-180.
- 138. Messina F.J. 1984.** Influence of cowpea pod maturity on the oviposition choices and larval survival of a bruchid beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Entomologia Experimentalis & Applicata* 35: 241-248.
- 139. Metcalf R.L.1987.** Plant volatiles as insect attractant. *Plant Science* 5: 251-301.
- 140. Mills C., Cleary B.J., Gilmer J.F., Walsh J.J. 2004.** Inhibition of acetyl cholinesterase by tea tree oil. *J. Pharm. Pharmacol.* 56: 375-379.
- 141. Mushambanyi T.M. 2003.** Effet de différentes poudres végétales sur l'infestation des semences de légumineuses et de céréales au cours de la conservation au Kivu (République démocratique du Congo). *Cahiers Agricultures* 12(1): 23-31.
- 142. Natale D., Matticci L., Hern A., Pasqualini E., Dorn S. 2003.** Resonse of female *Cydia molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant derived volatiles. *Bull. Entomol. Res.* 93: 335-342.
- 143. Nazzi F, Vidoni F, Frilli F. 2008.** Semiochemicals affecting the host-related behavior of the dry bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of stored Products Research* 44: 108-114.
- 144. Ndomo F., Tapondjou A.L., Tendonkeng F., Tchouanguép F.M. 2009.** Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera ; Bruchidae). *Tropicultura* 27(3): 137-143.

- 145. Nerio L.S., Olivero-Verbel J., Stashenko E. 2009.** Repellency activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against Motschulsky (Coleoptera). *Journal of stored Products Research* 45: 212-214.
- 146. Nerio L.S., Olivero-Verbel J., Stashenko E. 2010.** Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresour. Technol.* 101: 372-378.
- 147. Nicole C.M. 2002.** Les relations des insectes phytophages avec leurs plantes hôtes. *Antennae* 9(1): 5-9.
- 148. Norin T. 2007.** Semiochemicals for insect pest management. *Pure Applied Chemistry*, 79(12): 2129-2136.
- 149. Nyabyenda P. 2005.** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. Ed. Tec. & Doc., les Presses Agronomiques de Gembloux, 223p.
- 150. Odeyemi O. O., Masika P., Afolayan A. J. 2008.** Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *Afri. Entomol.* 16: 220-225.
- 151. Ohtsuka Y., Toquenaga Y. 2009.** Pioneer-Follower dilemma game in *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Ethology* 27: 131-136.
- 152. Oomah B.D., Liang L.S.Y. 2007.** Volatile compounds of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Foods Hum. Nutr.* 62: 177-183.
- 153. Padrini F., Lucheroni M.T. 2006.** Le grand livre des huiles essentielles. Ed. De Vecchi S.A., Paris. 206p.
- 154. Papachristos D.P., Stamopoulos D.C. 2002 a.** Reppellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 38: 117-128.
- 155. Papachristos D.P., Stamopoulos D.C. 2002 b.** Toxicity of vapours of the essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 38: 365-373.
- 156. Papachristos D.P., Stamopoulos D.C. 2004.** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 40: 517-525.
- 157. Parsons D.M.J., Credland P.F. 2003.** Determinants of oviposition in *Acanthoscelides obtectus*: a non conformist bruchid. *Physiological Entomology* 28: 221-231.

- 158. Paul U.V., Lossini J.S., Edwards P.J., Hilbeck A. 2009.** Effectiveness of products from four locally grown plants for the management of *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (both Coleoptera: Bruchidae) in stored beans under laboratory and farm conditions in Northern Tanzania. *Journal of Stored Products Research* 45: 97-107.
- 159. Péron J. Y. 2006.** Productions légumières. 2^{ème} édition. Lavoisier. 389 p.
- 160. Pierre D. 1980.** Etude de quelques facteurs liés à l'insémination et à la plante hôte modulant la reproduction de *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera : Brucidae). Thèse de 3^{ème} cycle. Univ. Tours. 167p.
- 161. Phillips T.W., Cogan P.M., Fadamiro HY. 2000.** Pheromones. In: *Alternatives to pesticides in stored product IPM*. (B. Subramanyam & DW Hagstrum eds.), Kluwer Academic, Boston. MA., pp. 273-302.
- 162. Polèse J.M. 2006.** La culture des haricots et des pois. Ed. Artémis, (1^{ère} édition). 95 p.
- 163. Pouzat J. 1978.** Host plant chemosensory influence on oogenesis in the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Entomologia Experimentalis Applicata* 24: 401-408.
- 164. Raguraman S., Singh D. 1997.** Biopotential of *Azadirachta indica* and *Cedrus deodora* oils on *Callosobruchus chinensis*. *International Journal of Pharmacognosy* 35: 344-348.
- 165. Raja N., Albert S., Ignasimuthu S., Dorn S. 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *J. Stored Prod. Res.* 37: 127-132.
- 166. Reddy G.V.P., Guerrero A. 2004.** Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Sciences* 9 (5): 253-261.
- 167. Regnault-Roger C. 1997.** The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* 2: 25-34.
- 168. Regnault-Roger C. 2002.** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire? In *Biopesticides d'origine végétale*, ed. C. Regnault-Roger, B.J.R. Philogène, C. Vincent Paris: Lavoisier Tech & Doc, pp. 19-40.
- 169. Regnault-Roger C., Hamraoui A. 1993.** Efficiency of plants from the south of France used as traditional protectants of *Phaseolus vulgaris* L. against its bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say). *J. Stored Prod. Res.* 29(3): 259-264.

- 170. Regnault-Roger C., Hamraoui A. 1994.** Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera) a kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection* 13: 624-628.
- 171. Regnault-Roger C., Hamraoui A. 1995.** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera) a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Stored Prod. Res.* 31: 291-299.
- 172. Regnault-Roger C., Hamraoui A., Hotelman M., Theron E., Pineal R. 1993.** Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) a pest of Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. chem. Ecol.* 19: 1233-1244.
- 173. Regnault-Roger C., Bernard J.R., Philogene C.V. 2002.** Biopesticides d'origine végétale. Ed. Tec &Doc. Lavoisier, Paris, pp. 20-37.
- 174. Regnault-Roger C., Ribodeau M., Hamraoui A., Bateau I., Blanchard P., Gil-Munoz M.I., Barberan F.T. 2004.** Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *A. obtectus* (Say). *J. of Stored Products Research* 40: 395-408.
- 175. Regnault-Roger C., Silvy C., Alabouvette C. 2005.** Biopesticides: réalités et perspectives commerciales. In : *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. Ed. C. Regnault-Roger, pp. 849-880.
- 176. Regnault-Roger C., Vincent C., Arnason J.T. 2012.** Essential oils in insect control: low- risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology* 57: 405-424.
- 177. Righi-Assia A.F. 2010.** Etude de la relation plante-insecte chez les Bruchidées : cas de la bruche du pois chiche *Callosobruchus chinensis* L. Thèse. Doc en Sciences en Biologie Animale. Univ. Mascara, Algérie. 133p.
- 178. Righi-Assia A.F., Khelil M.A., Medjdoub-Bensaad F., Righi K. 2010.** Efficacy of oils and powders of some medicinal plants in biological control of the pea weevil (*Callosobruchus chinensis* L.). *African Journal of Agricultural Research* 5(12): 1474-1481.
- 179. Roland J.C. 2002.** Des plantes et des hommes. Ed. Vuibert, 166 p.
- 180. Rossi E., Cosimi S., Loni A. 2012.** Bioactivity of essential oils from Mediterranean plants: insecticidal properties on *Sitophilus zeamais* and effects on seed germination. *Journal of Entomology* 38: 1-10.

- 181. Roussillat M. 1999.** Le robinier faux acacia. Ed. Actes Sud. Collection Le nom de l'arbre. 96p.
- 182. Rozman V., Kalinovic I., Korunic Z., 2007.** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored- product insects. *Journal of Stored Products Research* 43: 349- 355.
- 183. Ryne C. 1999.** The function of pheromones and their use in IPM of stored product moths and beetles. *Introductory paper n° 110*. Department of Ecology, Chemical Ecology, Lund University, Sweden.
- 184. Salunke B. K., Kotkar H. M., Mendki P. S., Upasani S. M., Maheshwari V. L. 2005.** Efficacy of flavonoids in controlling *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae), a post-harvest pest of grain legumes. *Crop Protection* 24(10): 888-893.
- 185. Sankara F., Dabire L.C.B., Dugravot S., Cortesero A.M., Sanon A. 2012.** Capacités de discrimination des femelles de quatre souches de *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae pour la localisation de l'hôte et la ponte aux dépens d'hôtes secondaires. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 6 (3): 1303-1315.
- 186. Schirner M. 2004.** Huiles essentielles: description de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. Ed. Guy Trédaniel, 323p.
- 187. Schmale I., Wäckers F.L., Cardona C., Dorn S. 2002.** Field infestation of *Phaseolus vulgaris* by *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). Parasitoid abundance and consequences for storage pest control. *Environmental Entomology* 31(5): 859-863.
- 188. Schmale I., Wäckers F.L., Cardona C., Dorn S. 2006.** Biological control of the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) by the native parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) on small-scale farms in Colombia. *Journal of Stored Products Research* 42: 31-41.
- 189. Schoonhoven A. V., Cardona C., Valor J. 1983.** Resistance to the bean weevil and the Mexican bean weevil (Coleoptera: Bruchidae) in noncultivated in common bean accessions. *Journal of Economic Entomology* 76(6): 1255-1259.
- 190. Seck D., Lognay G., Haubruge E., Marlier M., Gaspar C. 1996.** Alternative protection of cowpea seeds against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera:

- Bruchidae) using hermetic storage alone or in combination with *Boscia senegalensis* (Pers.). *Journal of Stored Products Research* 32(1): 39-44.
- 191. Serpeille A. 1991.** La bruche du haricot: un combat facile! (Ed. FNAMS, Paris). *Bulletin Semences* 116: 32-34.
- 192. Shaaya E., Ravid U. Paster N., Juven B., Lisman U., Pissarev U., 1991.** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-products insects. *J. Chem. Ecol.* 713: 499-504.
- 193. Shaaya E., Kostjukovski M., Eilberg J., Sukprakarn C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research* 33: 7-15.
- 194. Silué S. 2009.** Mécanismes génétiques de l'embryogenèse chez *Phaseolus* et application en hybridation interspécifique. Thèse Doc. Ingénierie Biologique, Univ. de Gembloux, Belgique, 172p.
- 195. Singh D., Aggarwal S.K. 1988.** Himachalol and himachalène: insecticidal principles of Himalayan cedar wood oil. *Journal of Chemical Ecology* 14: 1145-1151.
- 196. Soltner D. 1990.** Les bases de la reproduction végétale. Sol, climat, plante. Edition Lavoisier, 464p.
- 197. Southgate B.J. 1979.** Biology of the Bruchidae. *Annu. Rev. Entomol.* 24: 449-473.
- 198. Stamopoulos D.C. et Huignard J. 1980.** L'influence de diverses parties de la graine de haricot *P. vulgaris* sur le développement des larves d'*A. obtectus* (Coleoptera, Bruchidae). *Ent. Exp. & Appl.* 28: 38-46.
- 199. Stamopoulos D.C., Damos P., Karaglanklou G. 2007.** Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* du (Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 43: 571-577.
- 200. Strebler G. 1989.** Les médiateurs chimiques: leur incidence sur la bioécologie des animaux. Ed. Tec. & Doc., Lavoisier. 246p.
- 201. Szentesi A. 1981.** Pheromone-like substances affecting host-related behavior of larvae and adults in the dry bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*. *Ent. Exp. & Appl.* 30: 219-226.
- 202. Szentesi A. 2003.** Resource assessment and clutch size in the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*. *Pest Management Science* 59: 431-436.

- 203. Tapondjou L.A., Adler C., Bouda H., Fontem D.A., 2003.** Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera, Bruchidae). *Cahiers Agricultures* 12 (6) : 401-417.
- 204. Teuscher E., Anton R., Lobstein A. 2005.** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Lavoisier, 560p.
- 205. Thiéry D., Jarry M, Pouzat J. 1994.** To penetrate or not to penetrate- a behavioral choice by bean beetle first instar larvae in response to *Phaseolus vulgaris* seed surface quality. *Journal of Chemical Ecology* 20: 1867-1875.
- 206. Thöming G, Larsson BS, Anderson P. 2013.** Comparison of plant preference hierarchies of male and female moths and the impact of larval rearing hosts. *Ecology* 94: 1744-1752.
- 207. Thöming G, Norli HR, Saucke H, Knudsen GK. 2014.** Pea volatiles guide host location behavior in the pea moth. *Arthropod-Plant Interaction* 8: 109-122.
- 208. Tuda M. 2007.** Applied evolutionary ecology of insects of the subfamily Bruchinae (Coleoptera: Chrysomelidae). *Appl. Entomol. Zool.* 42 (3): 337-346.
- 209. Vet L.E.M., Van Lenteren J.C., Heymans M., Meelis E. 1983.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiological Entomology* 8: 97-106.
- 210. Visser J H. 1986.** Host odor perception in phytophagous insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31: 121-144.
- 211. Weaver D.K., Dunkel F.V., Ntezurubanza L., Jackson L.L., Stock D.T. 1991.** The efficacy of linalool, a major component of freshly milled *Ocimum canum* Sinus (Lamiaceae) for protection against post harvest damage by certain stored product Coleoptera. *J. Stored Product. Res.* 27 (4): 213-220.

Tableau 1. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de bergamote sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

HE de Bergamote	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	00	00	00	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	33,29a	7,9575a	11,69c
0,5 ul	3,5b	40,5b	38,48b	10,51b	5b	69,6b
0,75 ul	2c	18,5c	32,72c	0c	0c	91,5a
1 ul	1d	0d	0d	0c	0c	92,5a
2 ul	0e	0d	0d	0c	0c	94,25a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 2. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de menthe poivrée sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Menthe poivrée	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	00	00	00	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	43a	18,5a	11,69d
0,5 ul	10b	78,75b	64,36b	34,5b	10,5b	37c
1 ul	6,75c	62,75c	54,44c	33,29b	7,95c	79,24b
2ul	6c	45,25d	43,77d	25,5c	7,5c	73,10b
4ul	3,5d	23,5e	39,33d	12,5d	0,7d	86,84a
6ul	2d	15,25f	29,35e	4,75e	0d	92,88a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 3. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de thym sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Thym	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	0,00001	0,00058	00	00
0ul	12,5a	155,75a	96,07a	41,87a	7,95a	11,69d
0,25 ul	7,5b	49,5b	86,51a	33,29a	2,02b	55c
0,5 ul	6,25bc	42,5b	77,73a	23,95ab	1,22c	62c
0,75ul	4,25cd	39b	75,47a	1,42b	0,55d	78b
1ul	3,25d	30b	48,8b	0b	0,55d	91a
2ul	1,75d	1,75c	20,83c	0b	0,27d	97a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 4. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de citronnier sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Citronnier	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	0,00003	00	0,00014	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	33,29a	11,24a	11,69d
2ul	9,9b	162a	65,95ab	13,54b	7,95ab	47c
4ul	8,8bc	130a	60,96ab	10,05bc	6,69b	53b
6ul	7,5c	85,5b	44,87b	6,19c	4,09b	80,75a
8ul	2,07d	1,25c	0c	0d	0c	83a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 5. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de mandarinier sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Mandarinier	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	0,00006	0,00007	00	0,00003	00
0ul	12,5a	156,25a	77,73a	33,29a	11,93a	11,69d
2ul	9,72b	155,75a	63,01a	11,15b	7,95a	44,75c
4ul	7,63c	142,75a	58,17a	5,22bc	7,95a	56b
6ul	5,13d	43,5b	26,04b	2,7c	3,13b	75,25a
8ul	1e	0b	0c	0c	0b	80a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 6. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de laurier sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Laurier	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	0,00002	00	00	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	33,29a	7,95a	11,69e
2ul	2,87b	53b	25b	14,24b	5,57b	47,25d
4ul	1c	16,5c	16,22b	0c	0c	53c
6ul	0,79c	6,75c	13,16b	0c	0c	55,75b
8ul	0,19d	1,5c	3,12b	0c	0c	63,25a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 7. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle d'eucalyptus sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Eucalyptus	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	00	00	00	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	33,29a	7,95a	11,69e
2ul	8,75b	64,5b	69,76b	27,37b	7,95b	47,25d
4ul	6,75c	43,75c	59,43c	22,57c	5,2c	53c
6ul	4,75d	30d	54,02d	16,23d	3,2d	55,75b
8ul	2e	0e	0e	0e	0e	63,25a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 8. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de lavande sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Lavande	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	0,00021	00	00	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	33,29a	20,14a	11,69d
2ul	7,5b	121,75b	70,65a	21,98b	7,95b	38c
4ul	6c	68,5c	63,92ab	15,09c	6,86b	66b
6ul	4,25d	37,25d	48,04b	7,56d	4,08c	81a
8ul	1,75e	11,75e	28,47c	0e	0d	85a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 9. Résultats de l'analyse de la variance à un facteur et du test de Newman et Keuls pour l'effet de l'huile essentielle de cèdre sur la longévité des adultes d'*A. obtectus*.

Cèdre	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Germination
P	00	00	00	00	00	00
0ul	12,5a	155,75a	77,73a	33,29a	7,95a	11,69c
2ul	11,25b	80b	72,79b	4,08b	6,27b	67,75b
4ul	8,5c	61,25c	71,44b	2,50bc	4,21c	69,44ab
6ul	7,25d	50d	67,61c	0c	2,82d	71,15ab
8ul	5,75e	28,25e	61,175d	0c	1,47e	73,42a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 1 facteur. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 10. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des six huiles essentielles testées sur les paramètres biologiques de la bruche du haricot.

HE	Longévité	HE	Fécondité	HE	Fertilité	HE	Viabilité
P	0,00016		0,014		0,0099		0,0044
Cèdre	9,05a	Citronnier	106,9a	Cèdre	70,15a	Eucalypt.	19,89a
Citronnier	8,15a	Mandarinier	99,65a	Lavande	57,76a	Lavande	15,58ab
Mandarinier	7,19a	Lavande	79ab	Eucalypt.	52,19ab	Citron.	12,61b
Eucalyptus	6,95a	Cèdre	75,05ab	Citron.	49,90ab	Mandar.	10,48b
Lavande	6,4a	Eucalyptus	58,8ab	Mandar.	44,99ab	Laurier	9,50b
Laurier	3,4715b	Laurier	46,7b	Laurier	27,04b	Cèdre	7,97b

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 2 facteurs. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 11. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des six huiles essentielles testées sur les caractéristiques agronomiques des graines de haricot.

Huiles essentielles	Perte en poids	Taux de germination
P	0,73NS	0,12NS
Citronnier	9,77	55,088
Mandarinier	10,49	53,538
Eucalyptus	10,80	49,13
Laurier	10,82	46,18
Lavande	12,58	56,33
Cèdre	9,32	58,69

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P=0: différences très hautement significatives pour tous les paramètres étudiés déterminées par une analyse de la variance à 2 facteurs. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 12. Résultats de l'analyse de la variance comparative et du test de Newman et Keuls pour l'effet des huiles essentielles testées à faibles doses sur les paramètres biologiques de la bruche du haricot et les caractéristiques agronomiques des graines.

Huiles essentielles	Longévité	Fécondité	Fertilité	Viabilité	Perte en poids	Taux de germination
P	0,020*	0,03*	0,053NS	0,025*	0,18NS	0,031*
Menthe	8,81a	85,62a	60,07	34,07a	17,08	50,26b
Thym	6,25ab	56,62b	58,47	14,31b	10,00	65,42a
Bergamote	4,25b	49,06b	29,05	10,95b	12,95	67,01a

Toutes les expériences sont répétées 4 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par une analyse de la variance à 2 facteurs. Les valeurs suivies par la ou les mêmes lettres dans chaque colonne ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Newman et Keuls).

Tableau 13. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur huiles essentielles testées à des doses faibles par inhalation.

F1	Huiles	Moyennes	Valeur P
2.0	Thym	77,37a	00***
1.0	Bergamote	60,12b	
3.0	Laurier	48,12c	

Tableau 14. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour le facteur doses des huiles essentielles testées à des doses faibles par inhalation.

F2	Doses	Moyennes	Valeur P
5.0	40µl	91,87a	00***
4.0	30µl	81,66b	
3.0	20µl	80,83b	
2.0	10µl	55c	
1.0	0µl	0d	

Tableau 15. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour le facteur temps ou durée d'exposition aux huiles essentielles testées à des doses faibles par inhalation.

F3	Temps	Moyennes	Valeur P
4.0	96H	72,33a	00***
3.0	72H	68,66a	
2.0	48H	60,33b	
1.0	24H	46,16c	

Tableau 16. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour l'interaction huiles essentielles*doses testées à des doses faibles par inhalation.

F1	F2	Huile*Dose	Moyennes	Valeur P
2.0	5.0	Thym D40µl	100 a	0,00012***
2.0	4.0	Thym D30µl	98,12 ab	
2.0	3.0	Thym D20µl	97,5 ab	
1.0	5.0	Bergamote D40µl	93,12 ab	
2.0	2.0	Thym D10µl	91,25 ab	
1.0	4.0	Bergamote D30µl	85,62 abc	
3.0	5.0	Laurier D40µl	82,5 abc	
1.0	3.0	Bergamote D20µl	77,5 bcd	
3.0	3.0	Laurier D20µl	67,5 cd	
3.0	4.0	Laurier D30µl	61,25 d	
1.0	2.0	Bergamote D10µl	44,37 e	
3.0	2.0	Laurier D10µl	29,37 f	
1.0	1.0	Bergamote D0µl	0 g	
2.0	1.0	Thym D0µl	0 g	
3.0	1.0	Laurier D0µl	0 g	

Tableau 17. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour l'interaction huiles essentielles*temps testées à des doses faibles par inhalation.

F1	F3	Huile*Temps	Moyennes	Valeur P
2.0	3.0	Thym T72h	80 a	0,02799*
2.0	4.0	Thym T96h	80 a	
2.0	2.0	Thym T48h	79 a	
1.0	4.0	Bergamote T96h	74 ab	
1.0	3.0	Bergamote T72h	71 abc	
2.0	1.0	Thym T24H	70,5 abc	
3.0	4.0	Laurier T96h	63 abc	
1.0	2.0	Bergamote T48h	60 bc	
3.0	3.0	Laurier T72h	55 c	
3.0	2.0	Laurier T48h	42 d	
1.0	1.0	Bergamote T24h	35,5 d	
3.0	1.0	Laurier T24h	32,5 d	

Tableau 18. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour le facteur huiles essentielles testées par inhalation.

F1	Huiles	Moyennes	Valeur P
6.0	Menthe	75,87a	00***
5.0	Lavande	75,12a	
4.0	Eucalyptus	72,5a	
3.0	Cèdre	27,62b	
1.0	Citronnier	25,5b	
2.0	Mandarinier	21,62b	

Tableau 19. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour le facteur doses d'huiles essentielles testées par inhalation.

F2	Doses	Moyennes	Valeur P
5.0	80µl	79,47a	00***
4.0	60µl	64,06b	
3.0	30µl	58,54b	
2.0	10µl	46,45c	
1.0	0µl	0d	

Tableau 20. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour le facteur durée d'exposition aux huiles essentielles testées par inhalation.

F3	Temps	Moyennes	Valeur P
4.0	96H	57,91a	00***
3.0	72H	54,91ab	
2.0	48H	49,91b	
1.0	24H	36,08c	

Tableau 21. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour l'interaction huiles essentielles*doses testées par inhalation.

F1	F2	Huile*Dose	Moyennes	Valeur P
4.0	5.0	Eucalyptus d80µl	100 a	00***
5.0	5.0	Lavande d80µl	100 a	
4.0	4.0	Eucalyptus d60µl	100 a	
5.0	4.0	Lavande d60µl	100 a	
6.0	5.0	Menthe d80µl	98,75 a	
6.0	4.0	Menthe d60µl	98,12 a	
6.0	3.0	Menthe d30µl	97,5 a	
5.0	3.0	Lavande d30µl	93,75 a	
4.0	3.0	Eucalyptus d30µl	87,5 a	
6.0	2.0	Menthe d10µl	85 a	
5.0	2.0	Lavande d10µl	81,87 a	
1.0	5.0	Citron d80µl	78,12 a	
4.0	2.0	Eucalyptus d10µl	75 a	
2.0	5.0	Mandarinier d80µl	52,5 b	
3.0	5.0	Cèdre d80µl	47,5 b	
3.0	3.0	Cèdre d30µl	38,75 bc	
3.0	4.0	Cèdre d60µl	38,12 bc	
2.0	4.0	Mandarinier d60µl	25 cd	
1.0	4.0	Citron d60µl	23,12 cd	
2.0	3.0	Mandarinier d30µl	19,37 cd	
1.0	3.0	Citronnier d30µl	14,37 d	
3.0	2.0	Cèdre d10µl	13,75 d	
1.0	2.0	Citronnier d10µl	11,87 d	
2.0	2.0	Mandarinier d10µl	11,25 d	
4.0	1.0	Eucalyptus d0µl	0 d	
2.0	1.0	Mandarinier d0µl	0 d	
1.0	1.0	Citronnier d0µl	0 d	
5.0	1.0	Lavande d0µl	0 d	
3.0	1.0	Cèdre d0µl	0 d	
6.0	1.0	Menthe d0µl	0 d	

Tableau 22. Résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs et du test de Newman et Keuls pour l'interaction huiles essentielles*temps testées par inhalation.

F2	F3	Huile*Temps	Moyennes	Valeur P
5.0	4.0	d80µl T96H	90a	0,0259*
5.0	3.0	d80µl T72H	84,16ab	
5.0	2.0	d80µl T48H	77,08abc	
4.0	4.0	d60µl T96H	71,25bcd	
3.0	4.0	d30µl T96H	69,58bcd	
4.0	3.0	d60µl T72H	68,33bcde	
5.0	1.0	d80µl T24H	66,66bcde	
3.0	3.0	d30µl T72H	65bcde	
4.0	2.0	d60µl T48H	64,16cde	
3.0	2.0	d30µl T48H	60cde	
2.0	4.0	d10µl T96H	58,75cde	
2.0	3.0	d10µl T72H	57,08cde	
4.0	1.0	d60µl T24H	52,5def	
2.0	2.0	d10µl T48H	48,33ef	
3.0	1.0	d30µl T24H	39,58f	
2.0	1.0	d10µl T24H	21,66g	
1.0	3.0	d0µl T72H	0h	
1.0	4.0	d0µl T96H	0h	
1.0	1.0	d0µl T24H	0h	
1.0	2.0	d0µl T48H	0h	

Tableau 23. Pourcentage (\pm SE) du choix initial des mâles et femelles gravides de *A. obtectus* sur les cultivars de haricots versus témoin

	Mâles		Femelles		Valeur P K-W
	Stimuli	témoin	Stimuli	témoin	
H. rouge Vs témoin	0.83 \pm 0.11	0.75 \pm 0.13	0.58 \pm 0.14	0.16 \pm 0.11	0.0004***
H. blanc Vs témoin	0.75 \pm 0.13	0.16 \pm 0.11	0.66 \pm 0.14	0.25 \pm 0.13	0.0069**
H. dolique Vs témoin	0.16 \pm 0.11	0.75 \pm 0.13	0.66 \pm 0.14	0.33 \pm 0.14	0.0134*
H. brun Vs témoin	0.66 \pm 0.142	0.33 \pm 0.142	0.58 \pm 0.14	0.41 \pm 0.14	NS
H. jaune Vs témoin	0.75 \pm 0.13	0.25 \pm 0.13	0.50 \pm 0.15	0.50 \pm 0.15	NS

Toutes les expériences sont répétées 12 fois. P value: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

Tableau 24. Pourcentage du choix initial \pm SE des mâles et des femelles gravides d'A. *obtectus* en olfactométrie à deux choix.

	Mâles		Femelles		Valeur P K-W
	Stimuli	Témoin	Stimuli	Témoin	
H. rouge Vs témoin (1)	0.40 \pm 0.16	0.60 \pm 0.16	0.60 \pm 0.16	0.40 \pm 0.16	NS
H. blanc Vs témoin (2)	0.40 \pm 0.13	0.26 \pm 0.11	0.20 \pm 0.10	0.40 \pm 0.13	NS
H. dolique Vs témoin (3)	0.42 \pm 0.13	0.26 \pm 0.11	0.066 \pm 0.06	0.66 \pm 0.12	0.0061

Les expériences 2 et 3 sont répétées 15 fois / l'expérience 3 est répétée 10 fois. Valeur P: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

Tableau 25. Pourcentage du choix initial \pm SE des mâles et femelles d'A. *obtectus* en olfactomètre à quatre choix.

	Mâles	Femelles	Valeur P KW
H. rouge	0.07 \pm 0.07	0.30 \pm 0.13	NS
H. blanc	0.30 \pm 0.13	0.07 \pm 0.07	
H. dolique	0.15 \pm 0.1	0.23 \pm 0.12	
Témoin	0.30 \pm 0.13	0.30 \pm 0.13	

Les expériences 2 et 3 sont répétées 15 fois / l'expérience 3 est répétée 10 fois. Valeur de P: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

Tableau 26. Temps de choix moyen (sec.) \pm SE des mâles et des femelles gravides en olfactomètre à quatre choix.

	Mâles	Femelles	Valeur P KW
H. rouge	280.76 \pm 19.25	214.30 \pm 37.20	NS
H. blanc	230.69 \pm 30.69	282.15 \pm 17.87	
H. dolique	260.07 \pm 27.16	238 \pm 31.46	
Témoin	215.23 \pm 36.9	225 \pm 31.46	

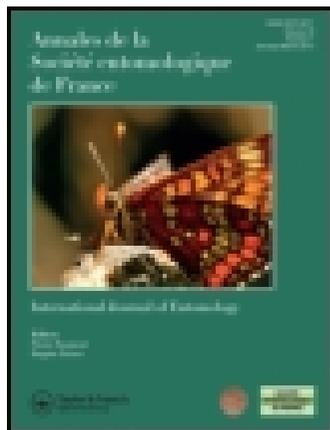
Les expériences 2 et 3 sont répétées 15 fois / l'expérience 3 est répétée 10 fois. P value: différences significatives déterminées par le test de Kruskal-Wallis (anova non paramétrique).

This article was downloaded by: [Dr Brigitte Frérot]

On: 09 October 2014, At: 06:58

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Annales de la Société entomologique de France (N.S.): International Journal of Entomology

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/tase20>

Dry bean volatile organic compounds mediating host choice in *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)

Karima Khelfane-Goucem^a, Ferroudja Medjdoub-Bensaad^a, Ene Leppik^b & Brigitte Frérot^b

^a Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou, Algérie

^b INRA, UMR 1272, PISC Physiologie de l'Insecte: Signalisation et Communication, Route de St Cyr, F-78000 Versailles, France

Published online: 30 Sep 2014.

To cite this article: Karima Khelfane-Goucem, Ferroudja Medjdoub-Bensaad, Ene Leppik & Brigitte Frérot (2014): Dry bean volatile organic compounds mediating host choice in *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), *Annales de la Société entomologique de France (N.S.): International Journal of Entomology*

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/00379271.2014.938547>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

Dry bean volatile organic compounds mediating host choice in *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)

Karima Khelfane-Goucem^a, Ferroudja Medjdoub-Bensaad^a, Ene Leppik^b & Brigitte Frérot^{b*}

^aFaculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou, Algérie; ^bINRA, UMR 1272, PISC Physiologie de l'Insecte: Signalisation et Communication, Route de St Cyr, F-78000 Versailles, France

(Accepté le 5 mai 2014)

Summary. Two-choice tests were conducted on five bean cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. and one of *Vigna unguiculata* (Walp.) to evaluate the attractiveness for mated males and females of a worldwide granary pest, *Acanthoscelides obtectus* Say. Attraction behaviour was studied under choice conditions in a static air and dynamic airflow olfactometer on red, white and cowpea cultivars against control beans. Behavioural differences between males and females were recorded. In the static atmosphere test, males were more attracted than females to dry beans, especially red and white cultivars; whereas cowpea beans attracted fewer females. Yellow and brown beans were attractive to males but were not significantly different from control beans. A dynamic air olfactometer experiment gave different results. The best responsiveness of females was when stimulated by red and control cultivar beans. They were not attracted by cowpea beans. Volatile organic compounds (VOCs), released from red, cowpea and control beans, were tentatively identified from solid phase microextraction (SPME) collections and headspace gas chromatography coupled to mass spectrometry (HS-GCMS). Analysis revealed a presence of 33 and 32 VOCs respectively in control and cowpea beans and 29 in red beans. VOC blends, released by studied cultivars, were mainly composed of terpenic compounds with a specific ratio for each cultivar. A comparison of linalool/limonene ratios for each cultivar suggests emission of specific chemical signals in control and red beans, whereas in cowpea beans the ratio of linalool and limonene was reversed and associated with a high level of pentanal. Qualitative and quantitative differences in the blend composition of red, cowpea and control beans may explain the choice behaviour of the bruchid, which is discussed in a biological and behavioural context.

Résumé. Les composés organiques volatils des graines de haricot médiateurs dans le choix de l'hôte chez *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae). Des tests de choix sont conduits sur les graines de 5 cultivars de *Phaseolus vulgaris* L. et d'un cultivar de *Vigna unguiculata* (Walp.) afin d'évaluer leur attractivité vis-à-vis des mâles et des femelles gravides de la bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say, un ravageur important des graines stockées. L'attractivité des cinq cultivars de graines a été étudiée dans des boîtes de Pétri (air statique). Trois cultivars rouge, blanc et le niébé sont testés dans un olfactomètre à quatre voies (air dynamique). Des différences de comportement entre les mâles et les femelles ont été enregistrées, ainsi que des différences de réponses suivant les types de tests. Les mâles sont plus attirés que les femelles dans les tests en atmosphère statique, surtout par les cultivars rouge et blanc, alors que les graines de niébé se sont montrées moins attractives pour les femelles. L'olfactométrie en air dynamique produit des résultats différents avec une bonne réponse des femelles stimulées par les graines des cultivars, rouge et témoin. Le niébé n'est pas du tout attractif pour ces dernières. Les composés organiques volatils (COVs) émis par le cultivar attractif rouge, le niébé ainsi que le témoin ont été identifiés par HS-GCMS et l'analyse a révélé la présence de 33 et 32 composés volatils chez les graines du témoin et du niébé contre 29 chez le cultivar rouge. Les mélanges de COVs émis par les trois cultivars sont principalement constitués par des composés terpéniques avec des ratios spécifiques pour chaque cultivar. La comparaison du ratio linalool-limonène pour les trois cultivars suggère l'émission d'un signal chimique spécifique. Les graines de niébé émettent une faible quantité de linalool alors qu'il est majoritaire chez les cultivars, rouge et témoin. Les graines de niébé sont aussi caractérisées par la présence de pentanal comme composé principal, qui est absent chez le cultivar rouge et présent en petites quantités chez le témoin. Ces différences qualitatives et quantitatives de la composition des COVs pourraient expliquer le comportement de choix de la bruche du haricot qui est discuté dans un contexte biologique et comportemental.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; *Vigna unguiculata*; VOCs; host choice; attractiveness; repellence; insect behaviour; olfactometer; GCMS

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) (Leguminosae) is a very important legume crop cultivated mainly in developing countries, where it constitutes a primary source of dietary proteins and minerals such as iron and zinc. Alongside

cereals, beans play an important role in the diet of the Algerian population. However, these strategic crops suffer losses due to bruchids during the post-harvest stage, especially in storage (Kellouche & Soltani 2004).

*Corresponding author. Email: brigitte.frerot@versailles.inra.fr

The bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* (Say 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), is one of the most damaging pests of common beans in the Mediterranean area (Regnault-Roger et al. 2004; Ayvaz et al. 2010). It is a multivoltine and oligophagous bruchid that damages not only *P. vulgaris* but also other Leguminosae species such as *Vigna unguiculata* (Walp.), *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L. (Hamraoui & Regnault-Roger 1995). Larvae feed on beans and cause losses of more than 30% of stored products (Pemonge et al. 1997). This insect can complete its entire life cycle within stored dry beans without returning to the field (Labeyrie 1962).

Semiochemicals are signal molecules used by insects in e.g. feeding, mating and egg laying (Norin 2007). The most widely used semiochemicals in pest management are sex pheromones, employed for population suppression or for efficient detection and monitoring. Pheromones have been isolated for many stored-product insects, and lures are commercially available (Chambers 1990; Phillips et al. 2000). However, plant volatiles can also be used successfully by manipulating the host location behaviour of the target insect. Indeed, a large range of behavioural responses in insects are elicited by plant chemicals, which can act as defence agents against pathogens and herbivores, stimulate pheromone production or induce repulsion or attraction for oviposition (Bernays & Chapman 1994; Reddy & Guerrero 2004). *Acanthoscelides obtectus* uses semiochemicals at different stages of its life cycle. Previous studies focused on volatile organic compounds (VOCs) released by the insect. Horler (1970) identified a sex pheromone which is produced by males and Halstead (1973) showed that contaminated beans (beans confined with males for 24 h prior to use) attracted virgin females but seemed less attractive to mated females than clean beans; virgin females given the choice between male pheromones and the smell of beans choose the former, showing that male pheromones contribute to mating before dispersal. However after fertilization, the females are no longer attracted by the pheromone and are free to disperse and locate new hosts, e.g. ripening pods in the field or beans in the store, by their smell. Szentesi (1981) and Brzostek & Ignatowicz (1990) found that both males and females release deterrent oviposition signals on beans, which stimulate beetle dispersal among them. Parsons and Credland (2003) confirmed the previous results and suggested that *A. obtectus* oviposition appears to be an adaptation to both storage and cropland environments. Nazzi et al. (2008) noted that *A. obtectus* females preferred the odour of clean beans than that of beans where their conspecifics had developed. Ether extracts of such beans were repellent to these beetles.

A large number of insect pests use plant volatiles in host location. For many decades the role of chemical signals released by plants was assessed as an important cue for oviposition site recognition (Bernays & Chapman 1994;

Bruce et al. 2005). Insects locate suitable host plants by integrating numerous sensory inputs, including olfactory cues, gustatory semiochemical cues and physical information such as host plant colour, shape and texture. They are attracted to plant volatiles to locate food and potential mates, or select oviposition sites. Few studies have been published about host location in storage pests such as the bean beetle *A. obtectus* in relation to bean cultivar volatile organic compounds (VOCs). The study of Oomah and Liang (2007), based on gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCMS) analysis of VOCs emitted by *P. vulgaris* dry bean cultivars, indicates a presence of 62 volatiles consisting of aromatic compounds, hydrocarbons, aldehydes, alkanes, alcohols and ketones, with 18 compounds bearing common profiles, showing the differences between cultivars in abundance and profile of VOCs. However the study did not investigate the effect of such VOC blends on the behaviour of bruchids.

The objective of the present study is to determine the resistance or sensitivity of bean cultivars and whether *A. obtectus* beetles can use VOCs to locate them. Choice experiments were conducted on mated beetles, considering in the first experiment olfactive and visual cues, and only olfactive cues in the second one. Bean VOCs profiles were studied to determine putative compounds, indicating sensitivity or resistance, and were tentatively identified using headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and GCMS methods.

Materials and methods

Insects

The *Acanthoscelides obtectus* strain came from a sample collected in Tlemcen, Algeria (34°52'41"N, 1°18'53"W) in 2000 and was reared in a dark incubator under controlled conditions (30 ± 1°C and 70 ± 5% relative humidity) on *P. vulgaris* dry beans (Rognon blanc cultivar) maintained in glass bottles (18 cm high and 11 cm diameter). Every two months, newly emerged unsexed adults were transferred onto fresh beans for rearing.

Adults used in our experiments originated from the same generation. Every day, newly emerged individuals were placed for 48 h in Petri dishes containing beans, in order for mating to occur. Beetles were sexed to separate gravid females from males.

Beans

Five cultivars of *P. vulgaris* and one of *V. unguiculata* usually cultivated in Algeria were studied. Control beans were the white kidney bean cultivar on which beetles were reared. The other cultivars – small white beans, red beans (Sunray cultivar), brown and yellow beans (speckled beans named Coco of Prague) and cowpea beans (black eye California cultivar of *V. unguiculata*) – were obtained from a commercial supplier (Tizi Ouzou, Algeria). They were certified to have been treated with no insecticide and no chemicals and conserved at 4°C before using. The white kidney beans on which the insects were reared are referred to as control for all experiments. In the olfactometer test, yellow and brown beans were discarded because they did not show significant differences from control beans.

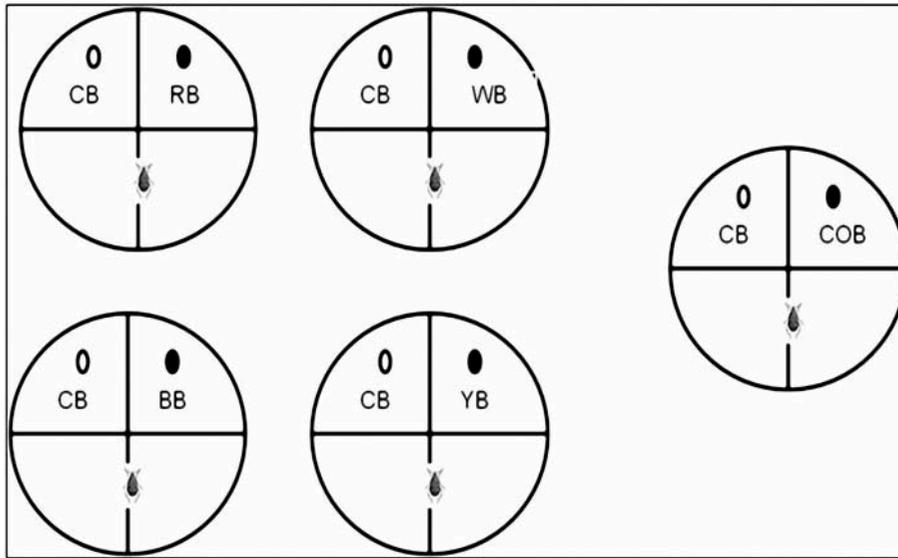


Figure 1. Bean cultivar combinations presented to mated males and females of *Acanthoscelides obtectus* in two-choice test bioassays. CB: control bean, RB: red bean, WB: white bean, BB: brown bean, YB: yellow bean and COB: cowpea bean.

Experimental conditions

Static air choice bioassay. Choice chambers were prepared with Petri dishes (diameter 10 cm) divided into two sectors. Combinations of one control bean with either red, white, brown, yellow or cowpea beans were tested (Figure 1). For each combination, two beans were placed in the opposite sides of a chamber while a single mated male or gravid female was introduced in the center of the lower half of the Petri dishes (as shown on Figure 1) and observed for 10 minutes. Experiments were replicated 12 times, conducted under apposite white artificial light at 23°C. Initial choice and time required by adults to make their choice (the time from insect release to the moment when insect is on the chosen bean), named the “choice time”, were recorded. During these bioassays, a beetle can be guided by both olfactory and visual factors.

Dynamic air olfactometer test. A four-way olfactometer (internal dimensions of chamber: 6.5 by 6.5 cm and external dimensions: 24.5 by 24.5 cm), built according to Vet et al. (1983), was used to observe *A. obtectus* adults' behaviour stimulated by VOCs released from bean cultivars. In this bioassay we used only white, red or cowpea beans (selected in the choice test) against control beans. Two different cultivar beans were presented to both mated males and females introduced in the centre of the olfactometer. Each observation lasted five minutes. Each choice test was replicated 15 times for cowpea and white cultivars and 10 times for the red cultivar. The olfactometer was placed in a dark room lighted from above with white light and maintained at 23°C temperature. After each repetition, each way of the olfactometer was separately cleaned with ethanol. Individual initial choices and choice times (s) were recorded.

VOC extraction and analysis

We considered only cultivars giving either high (red bean) or low (cowpea bean) responses in the olfactometer tests. Brown and yellow were not studied because responses were equivalent to control beans. VOCs were collected from these beans using HS-SPME. Samples of studied beans (26 g) were placed in sealed glass flasks (50 ml) and left for 1 h for equilibration. SPME fibres (divinylbenzene/carboxen/ polydimethylsiloxane – DVB/CAR/PDMS – 50/30 µm SUPELCO) were inserted through the aluminium foil closing

the flask. After 24 h, fibres were collected and wrapped in aluminium foil and stored at –20°C before analysis. Two replications were performed for each cultivar, and results may be distorted.

Analyses were performed by gas chromatography (GC) (VARIAN 3400 CX, USA) coupled with mass spectrometry (MS) (VARIAN-Ion Trap Saturn II, USA). The chemicals adsorbed on SPME fibres were thermally desorbed into the injector held at 250°C. Compound separation was carried out using an Rxi-5 ms column (Restek, Lisses, France) 30 m × 0.32 mm internal diameter (i.d.), film thickness of 0.25 µm. The oven temperature program was 50°C for 3 min, followed by a temperature increment of 8°C/min to 300°C. Helium was used as carrier gas. Mass spectra were obtained in electron impact mode (70 eV, 35 to 400 amu) with the ion source at 230°C. Compounds eluted from SPME collections were identified according to their mass spectra and retention indexes (RIs) computed using n-alkanes from C₁₀ to C₂₄, eluted under the same conditions. Each compound spectrum and RI was compared with the RIs and spectra of laboratory and NIST 1998 libraries (NIST, Gaithersburg, MD, USA) using deconvolution software AMDIS32. VOCs collected from red, control and cowpea beans were identified and relative percentages (ratios) were calculated relevant to total compound quantities.

Statistical analysis

Behaviour results of males and females are expressed in terms of choices 0 and 1. Time (in seconds) required by adults to make their choice (choice time) is noted in relation to the duration of the experiment. The data series were compared using the Kruskal–Wallis test on the GraphPad program (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Factorial correspondence analysis (FCA) was performed for the identified VOCs.

Results

Static air choice bioassay

Average responses of *A. obtectus* males were higher than those of females during the choice test in Petri dishes. Males were significantly more attracted to red and white

beans than to control beans ($p = 0.0004$ and $p = 0.0069$, respectively), whereas females did not show any significant choice, even though red and white cultivars were more chosen than the control cultivar. Males were significantly ($p = 0.0004$) more attracted by red beans than females whereas the differences were not significant between male and female attraction to white beans. Conversely, cowpea beans did not attract males ($p = 0.0134$) whereas the females exhibited a response comparable with the control. In the presence of brown and yellow beans, males and females were attracted but not significantly more than to the control beans (Figure 2). Thus these two cultivars were not further studied.

Choice time for each cultivar was compared to control and corroborate the males' and females' initial choices. The most chosen beans, i.e. the red cultivar, showed a short choice time. Compared to control beans, males spent less time (155.67 ± 61.61 s) choosing red beans ($p = 0.0001$) than white beans (349.67 ± 49.53 s) ($p = 0.0579$). Control beans were more quickly chosen by males (274.92 ± 67.78 s) than cowpea beans (538.58 ± 41.42 s) ($p = 0.0243$). For

females, no significant difference appeared in choice time. Concerning yellow and brown cultivars, males and females did not express any significant difference in duration of the choice behaviour (Table 1). These results suggest that males were more involved by bean choices and were attracted in decreasing order by red, white, control and cowpea beans.

Dynamic air olfactometer test

In the four-arm olfactometer, no significant difference appeared relating to *A. obtectus* male and female choices when they were stimulated by red or white beans. In the presence of cowpea and control beans, females were significantly more attracted by control beans ($p = 0.0061$), whereas male attraction did not differ significantly (Figure 3). Overall choice responses showed that cowpea beans were less attractive than the others.

Choice time analysis showed that females spent significant lower time choosing control beans than cowpea beans ($p = 0.0025$). For the other cultivars, duration

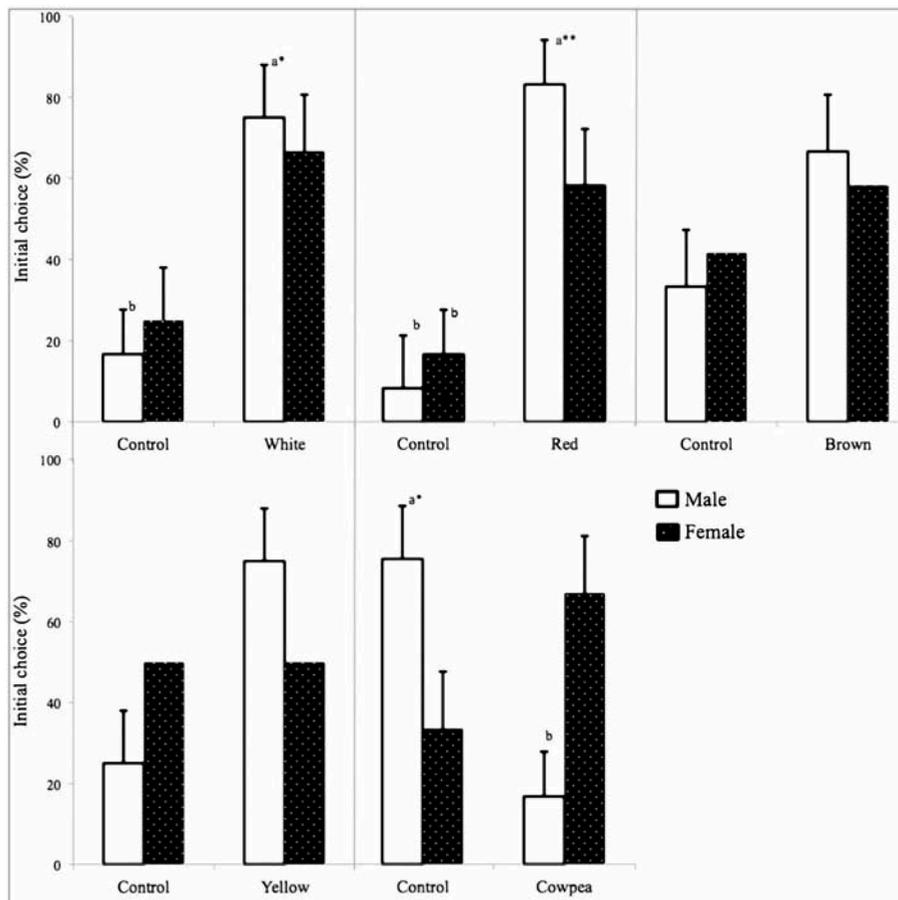


Figure 2. Initial choice percentage of *A. obtectus* mated males and females on bean cultivars against control beans (Rognon blanc cultivar) in Petri dish two-choice tests. All experiments were replicated 12 times. Means with different letters are significantly different at $p < 0.01$, determined by Kruskal–Wallis test.

Table 1. Mean choice time (s) (mean ± SE) spent by *A. obtectus* males and females choosing cultivar beans versus control beans in Petri dish choice test.

	Males		Females		<i>p</i> -value K-W
	Stimuli	Control	Stimuli	Control	
Red bean versus control	155.67 ± 61.61a	567.5 ± 32.5 b	318.75 ± 74.65a	555.25 ± 31.26b	0.0001(***)
White bean versus control	349.67 ± 49.53	516.75 ± 56.12	360.92 ± 57.4	502.5 ± 50.97	NS (0.0579)
Cowpea bean versus control	538.58 ± 41.42a	274.92 ± 67.78	360.83 ± 59.93	430.5 ± 74.30b	0.0243(*)
Brown bean versus control	311.92 ± 63.64	435.08 ± 70.43	457.67 ± 45.59	505 ± 39.79	NS
Yellow bean versus control	346.75 ± 48.98	504.17 ± 50.1	329.92 ± 81.48	365 ± 71.86	NS

All experiments were replicated 12 times. Means with different letters in the same row are significantly different using the Kruskal–Wallis test. NS: not significant; (**): $\alpha = 0.001$ and (*): $\alpha = 0.05$.

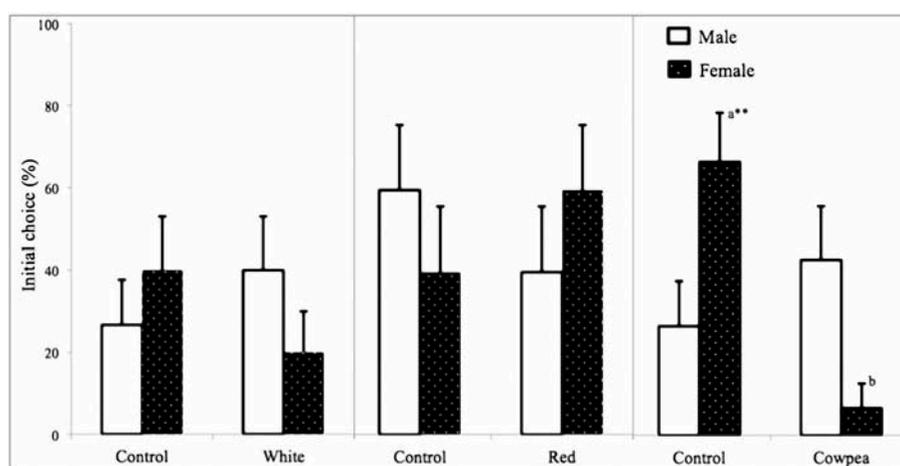


Figure 3. Initial choice percentage of *A. obtectus* mated males and females on red, white and cowpea beans against control (Rognon blanc cultivar) in a four-arm olfactometer bioassay with two-choice tests. Experiments were replicated 15 times for control and cowpea beans and 10 times for red beans. Means with different letters are significantly different at $p < 0.01$, determined by Kruskal–Wallis test.

Table 2. Mean choice time (s) (mean ± SE) spent by *A. obtectus* males and females choosing beans in two-choice olfactometer bioassays.

	Males		Females		<i>p</i> -value	n
	Stimuli	Control	Stimuli	Control		
Red bean versus control	238.8 ± 31.30	185.9 ± 38.90	187 ± 38.62	230.8 ± 35.93	NS	10
White bean versus control	190.27 ± 36.02	225.75 ± 32.95	243.87 ± 30.02	188.53 ± 36.51	NS	15
Cowpea bean versus control	199.67 ± 33.02	231.47 ± 30.63	281.33 ± 18.66a	133 ± 32.52b	0.0061(**)	15

Means with different letters in the same row are significantly different using the Kruskal–Wallis test. NS: not significant; (**): $\alpha = 0.001$; (*): $\alpha = 0.01$.

of responses did not differ significantly (Table 2). The results showed that females react quicker than males to odours released by beans in the olfactometer, but with no significant difference. Statistical differences were recorded only for cowpea beans against control beans. Cowpea beans were the less attractive compared to the other cultivars.

VOC extraction and analysis

VOCs of red, cowpea and control dry bean cultivars were collected using headspace SPME and tentatively identified with GCMS. A total of 34 VOCs were detected from the three cultivars (Table 3). In the control and cowpea beans 33 and 32 VOCs, respectively, were identified, compared to 29 in red beans. Some qualitative differences between

Table 3. Relative percentage of VOCs collected by SPME (DVB/CAR/PDMS – 50/30 µm Supelco) on *P. vulgaris* bean cultivars (red and control) and a *V. unguiculata* cultivar identified by GCMS.

RI	VOC	Cultivar					
		Red (<i>n</i> = 2)		Cowpea (<i>n</i> = 2)		Control (<i>n</i> = 2)	
		Mean ± SE	O	Mean ± SE	O	Mean ± SE	O
690	Pentanal	—	0	31.6 ± 3.5	2	2.4 ± 3.4	1
718	Pentanol	—	0	1.0 ± 1.3	1	1.0 ± 1.0	2
729	2 pentanone	—	0	0.2 ± 0.3	1	0.1 ± 0.05	2
758	2 Methane 1 butanol	0.01 ± 0.02	1	0.1 ± 0.01	2	0.4 ± 0.6	1
808	2 hexenol	1.8 ± 2.6	1	4.3 ± 0.5	2	5.0 ± 0.9	2
859	Cis 3 hexenol	0.02 ± 0.04	1	0.7 ± 0.1	2	0.2 ± 0.3	1
869	Hexanol	0.1 ± 0.1	1	1.8 ± 0.8	2	2.3 ± 1.6	2
942	Alpha pinene	0.3 ± 0.2	2	0.9 ± 0.2	2	1.8 ± 1.5	2
968	Benzaldehyde	2.2 ± 1.3	2	0.3 ± 0.4	1	7.7 ± 1.9	2
980	Trans 2 octenal	0.7 ± 0.4	2	—	0	0.1 ± 0.2	1
981	Beta pinene	2.0 ± 1.4	2	0.7 ± 0.2	2	0.8 ± 1.2	1
993	Beta myrcene	0.4 ± 0.2	2	1.0 ± 0.6	2	0.1 ± 0.2	1
1019	3 carene	0.2 ± 0.1	2	0.3 ± 0.04	2	0.4 ± 0.3	2
1031	p-cymene	0.6 ± 0.5	2	0.3 ± 0.1	2	0.5 ± 0.3	2
1037	Limonene	14.8 ± 5.5	2	26.6 ± 11.0	2	11.4 ± 3.1	2
1042	Benzyl alcohol	—	0	0.5 ± 0.7	1	2.6 ± 1.6	2
1066	Terpinene	0.5 ± 0.3	2	0.2 ± 0.0	2	0.1 ± 0.1	1
1106	Linalool	51.4 ± 1.3	2	15.3 ± 5.1	2	33.2 ± 1.2	2
1117	Thujone	0.8 ± 0.7	2	5.3 ± 5.0	2	1.5 ± 1.4	2
1125	2 phenylethanol	0.3 ± 0.5	1	1.0 ± 0.8	2	1.3 ± 1.8	1
1155	4 methyl 5 nonanol	—	0	0.1 ± 0.1	1	0.6 ± 0.4	2
1164	Nerol	1.3 ± 1.9	1	0.6 ± 0.9	1	0.8 ± 0.7	2
1185	Menthol	0.4 ± 0.1	2	0.4 ± 0.0	2	0.7 ± 0.2	2
1203	Terpineol	0.6 ± 0.3	2	0.2 ± 0.1	2	0.6 ± 0.1	2
1208	Citronellol	7.4 ± 3.5	2	4.6 ± 2.8	2	12.1 ± 0.6	2
1247	Anise aldehyde	0.5 ± 0.2	2	0.3 ± 0.4	1	1.6 ± 0.01	2
1258	Carvone	5.2 ± 7.3	1	0.1 ± 0.2	1	0.7 ± 0.2	2
1362	Sesquiterpene	0.6 ± 0.1	2	0.1 ± 0.1	1	0.2 ± 0.3	1
1413	Alcohol	0.1 ± 0.2	1	—	0	0.3 ± 0.5	1
1418	Unknown compound	2.2 ± 1.7	2	0.2 ± 0.4	1	7.9 ± 2.2	2
1443	Isomer of farnesene n°1	0.5 ± 0.2	2	0.1 ± 0.1	1	0.1 ± 0.2	1
1452	Caryophyllene	0.9 ± 0.5	2	0.1 ± 0.0	2	0.3 ± 0.4	1
1517	Isomer of farnesene n°2	3.7 ± 1.9	2	0.3 ± 0.4	1	0.9 ± 1.3	1
1526	Isomer of farnesene n°3	0.4 ± 0.4	2	0.8 ± 0.4	2	—	0

RI: retention index; SE: standard error; O: occurrence. Bold type indicates compounds that presented highest ratio in each cultivar.

cultivars were reported: pentanal, pentanol, 2 pentanone, benzyl alcohol and 4-methyl 5-nonanol were missing in red beans but were present in cowpea and control beans. Most (about 80%) of volatile compounds from beans, 26 VOCs, were shared by all the three cultivars. Of these, 18 were terpenic chemicals. The main qualitative differences occurred between cowpea and the other two *Phaseolus* species. The main compound identified in cowpea effluvia, pentanal, was absent in red beans and present as minor compound in the control beans. In red and control beans, the main components were the linalool and limonene and citronellol, also present in cowpea VOCs but in different relative amounts. Considering the three types of beans and the 18 most abundant VOCs – pentanal, pentanol, 2-hexenol, hexanol, alpha pinene, benzaldehyde, beta pinene beta myrcene, limonene, benzyl alcohol, linalool,

thujone, phenylethanol, nerol, citronellol, carvone and isomers of farnesene (Figure 4) – we found qualitative and quantitative differences. Interest is focused on relative amounts of the main shared compounds: linalool and limonene (Figure 5). Linalool was the main compound of the red and control beans effluvia whereas it was less abundant in cowpea beans.

Factorial correspondence analysis (FCA) was used to evaluate the contribution of each compound (34) in the expression of bean odours and to explain differences showed by *A. obtectus* in behavioural bioassays. FCA is restricted to two factors, F1 and F2, representing respectively 73% and 27% of the total variance (Figure 6). The first factor (F1) clearly places cowpea beans (positive side) opposite to red and control beans (negative side); VOCs which showed highest contribution percentages and Cos^2 (squared cosines)

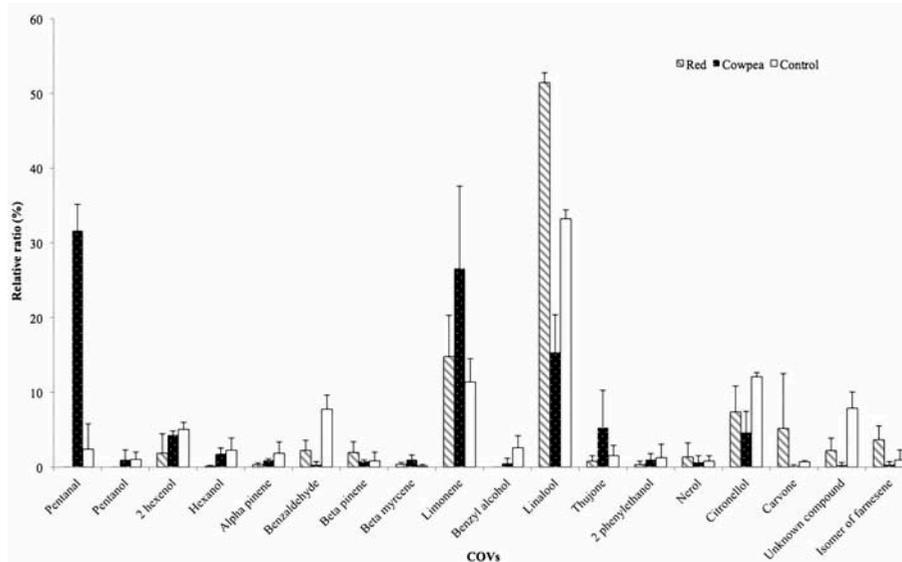


Figure 4. Relative percentage of the 18 most abundant VOCs collected from red, cowpea and control beans using HS-GCMS analysis.

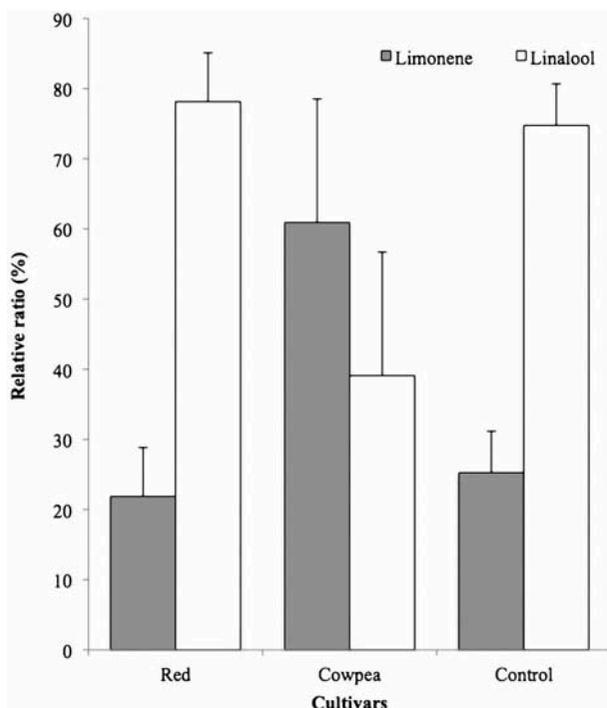


Figure 5. Linalool/limonene relative percentages quantified in red, cowpea and control beans using HS-GCMS.

are pentanal, linalool, limonene and thujone. Squared cosines values obtained by the ratio of the sum of squares of the coordinates extracted lines measures representation quality. Cowpea beans are characterized by three main components: pentanal (53.12%), limonene (6.32%) and thujone (4.50%). Linalool (15.97%), negatively correlated, is present in all bean odours, with lowest amounts in cowpea and highest ones in red and control beans. The second factor

(F2) separates red bean (negative side) from the control bean (positive side) and the most important variables were an unknown compound (15.46%), benzaldehyde (14.52%), carvone (11.37%), benzylalcohol (9.40%) and linalool (8.64%) with scores of 0.75, 0.73, -0.84, 1.06 and -0.18 respectively. The composition of red and control beans appears to be similar with specific concentrations; benzaldehyde and an unknown compound would be the dominant descriptive for F2 characterization of control beans, while carvone is present at higher levels in red beans.

Discussion

We investigated possible reasons for resistance or sensitivity of different cultivar beans to *A. obtectus* males and gravid females and whether beetles can use VOCs to localize them. Beetle attractiveness was compared on five bean cultivars of *P. vulgaris* and one of *V. unguiculata* in static air choice test and dynamic air olfactometer.

Few behavioural tests based on bean VOC stimulations are available in the literature. Szentesi (1981) and Nazzi et al. (2008) studied beans with and without pheromones. However the previous studies are hardly comparable as they used different beans to ours. These previous works showed that females were more attracted than males by beans, but the physiological status (virgin or mated adults) of insects was unknown. Our results showed a global preference for the white and the red beans, an average choice for the control and an asymmetrical behaviour toward cowpea beans. Petri dish choice tests revealed that males were more attracted by beans than females, except for cowpea beans, which were avoided by males. The choice time corroborated initial choices of males and females. In all cases, *A. obtectus* adults need a

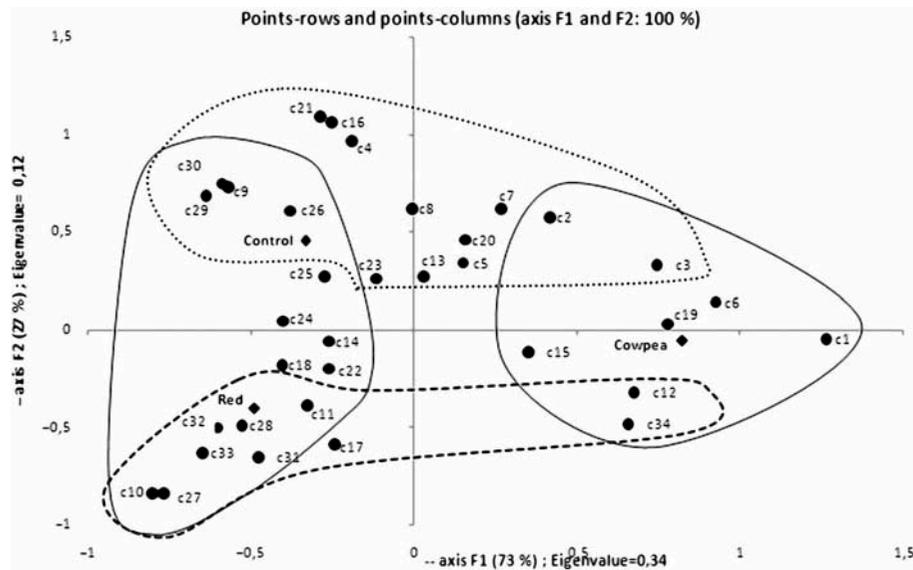


Figure 6. Representation of cultivar/VOCs factorial correspondences analysis. C₁–C₃₄: VOCs collected and identified by GCMS from bean cultivars.

short time to select the most frequently chosen beans. The results of the olfactory tests show discrepancies, probably linked to the device. Tests in Petri dishes are close-range tests with an association of visual and olfactory cues. The olfactory cues rely on the effluvia gradient of concentrations, while in the four-arm olfactometer, the stimulus was carried by the air flow loaded with VOCs released by beans. In this case, the insect choice was steered by chemo-anemotactic response and there were no visual cues. During host location, insects use visual, olfactory and taste cues and visual location allows insects to find the plant of interest over short distances (Nicole 2002). Generally, insect females are concerned by host choice in searching for suitable oviposition sites to ensure survival of their offspring. For *A. obtectus*, males seemed to be the colonizing sex as they release a sex pheromone (Horler 1970; Halstead 1973; Errard 1981) which marks beans, bringing females to within close range of oviposition sites (Parsons & Credland 2003). Recent studies on Lepidoptera species behaviour indicated that the mating behaviour of males might interact with host plant cues and consequently males influence host selection (Thöming et al. 2013).

Phaseolus vulgaris (white and control) and *V. unguiculata* cultivars were visually of similar colour and texture but did not have the same attractiveness. In addition, bean cultivars of different colours (white and red beans) had a similar attractiveness. These results did not corroborate the previous studies reporting that colour and size influence *A. obtectus* host plant selection (Zachariae 1958 in Labeyrie 1962; Szentesi 2003). However, Nicole (2002) reported that usual behaviour of insects in search of oviposition sites and feeding may be influenced not only

by the perception of host plant colour and shape but also by spectral intensity or reflectivity. Sankara et al. (2012) showed that females of four strains of cowpea beetles *Callosobruchus maculatus* locate their host using both olfactory stimuli (olfactometry) and a complex of visual and olfactory stimuli (three-dimensional device). In our experimental conditions, even at close range, the visual cues did not seem to be a determinant factor in host choice.

Visual cues were excluded in olfactometer experiments because *A. obtectus* adults could not see the beans offered. The difference between males and females relating to bean preferences, in the present study, was induced by the specific VOCs released by cultivar beans. Nazzi et al. (2008), using the same four-arm olfactometer, reported that “cannellino” bean cultivars were attractive to females but not to males. In our study, the preference was more likely due to the choice options. Females were highly attracted when the choice combination was red beans versus control, and avoided the control compared to cowpea beans. Cowpea bean is another species not sensitive to *A. obtectus* attacks, having its own pest, *C. maculatus*. Sex-specific differences in responses of herbivorous insects to plant VOCs have been reported for numerous insects belonging to various orders, such as Coleoptera (Ginzel & Hanks 2005). In our study males and females can discriminate bean cultivars. The non symmetrical responses according to the sex and type of behavioural tests could also be results of the VOCs released. Ballhorn et al. (2013) investigated whether males and females of two chrysomelid herbivores (*Gynandrobrotica guerreroensis* and *Cerotoma ruficornis*), oligophagous beetles feeding on lima beans (*Phaseolus lunatus*), can use VOCs to locate host plant at long and short distances. They reported that

beetle sex and plant VOCs had significant effects on host searching behaviour. Female beetles of both species were repelled by VOCs released from induced plants independent of the level of induction, while male beetles were repelled by only strongly induced plants. The plant quality as food source and as a potentially enemy free space is more important for female than male insect herbivores, while males are more influenced by VOCs which can help them to locate putative mating partners. Thöming et al. (2014) found that male and female pea moths, *Cydia nigricana* (Lepidoptera, Tortricidae), can discriminate between phenological stages of pea plants in relation to specific blends they release. Flowering pea plants constituted the most attractive phenological stage for mated females, with 58% landing on such plants in the wind tunnel. Mated females showed the highest landing responses to volatiles extracted by headspace during flower development (budding 42% and flowering 56%). In contrast, males and virgin females did not exhibit such pronounced preference for a specific phenological stage.

Chemical signals released by red, control and cowpea beans were composed of ubiquitous compounds but in specific ratios for each cultivar. Cultivars share the majority of VOCs, most of which are terpenes, but qualitative and quantitative differences were shown, leading to the release of either closely related or specific chemical signatures.

Oomah and Liang (2007) studied VOCs of dry beans of black, dark red and pinto cultivars using the same SPME fibres as this study. They identified only three terpenes (α -pinene, 3-carene and limonene), whereas the present study, in addition to the three terpenic compounds, revealed the presence of 15 other terpenes among VOCs shared between red, control and cowpea beans. Because our cultivars and those cited in this study are not genetically typed, it is hard to compare results. However each cultivar possessed its own chemical signature.

Plant volatiles are often complex mixtures comprising several compounds (Visser 1986; Fraser et al. 2003) and blends are composed of ubiquitous compounds produced by many other plants in the habitat. According to Bruce et al. (2005), host plant recognition depends on ratio of plant volatiles and not just on detection of the presence or absence of particular compounds. Our results serve as a new example of the role of chemical signatures of the host in insect choice. The red, control and cowpea beans released a specific blend of chemicals, and pentanal, limonene and linalool might be key compounds for explaining resistance or sensitivity of bean species and cultivars to *A. obtectus*.

From our results it is difficult to draw patterns for bean colonization, but we can propose a scenario. Males responded well to all bean cultivars but avoided cowpea beans. Females responded to all cultivars including cowpea beans but when stimulation is conveyed by dynamic air flow, females avoided cowpea beans, unlike the males. Thus, males seeking beans fail to discriminate beans at

long range, whereas females succeeded. At short range, males discriminated the bean species better. According to previous studies, they emit a sex pheromone to mark beans and consequently could contribute to bean location. At long distance, mated females discriminate bean species and focused on *Phaseolus* spp.

Because plant volatile compounds play a crucial role in insect life, they can be a useful tool in insect pest management programs. Kairomones are as effective as pheromones. Manufacturing food volatiles may be cheaper than manufacturing pheromones in the required isomerism and purity, and trapping stored-product beetles with kairomones may be the most cost-efficient solution (Ryne 1999). Candidate compounds identified from bean cultivars can be used as synthetic attractants in traps to monitor and control harmful pests of *A. obtectus* in stores.

Further studies, such as electrophysiological recordings from *A. obtectus* antennae, are needed to decipher which compounds steered the choice. Further studies will also focus on candidate compounds: linalool, limonene and pentanal.

References

- Ayvaz A, Sagdic O, Karaborklu S, Ozturk I. 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*. 10(21):1–41.
- Ballhorn DJ, Kautz S, Heil M. 2013. Distance and sex determine host plant choice by herbivorous beetles. *Plos One* 8(2):1–13.
- Bernays EA, Chapman RF. 1994. *Host plant selection by phytophagous insects*. New York: Chapman and Hall, 312 p.
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM. 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*. 10(6):269–274.
- Brzostek G, Ignatowicz S. 1990. The role of a pheromone-like substance deposited on beans by the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera, Bruchidae). *Polskie Pismo Entomologiczne*. 60:237–250.
- Chambers J. 1990. Overview on stored-product insect pheromones and food attractants. *Journal of the Kansas Entomological Society*. 63:490–499.
- Errard C. 1981. Effet du groupement sur l'attractivité des mâles d'*Acanthoscelides obtectus* dans certaines conditions expérimentales. *Biology of Behaviour*. 6.3:229–237.
- Fraser AM, Mechaber WL, Hildebrand JG. 2003. Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *Journal of Chemical Ecology*. 29:1813–1833.
- Ginzel MD, Hanks LM. 2005. Role of plant host volatiles in mate location for three species of longhorned beetles. *Journal of Chemical Ecology*. 31:213–217.
- Halstead DGH. 1973. Preliminary biological studies on the pheromone produced by male *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored products Research*. 9:109–117.
- Hamraoui A, Regnault-Roger C. 1995. Oviposition and larval growth of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae) in regard to host and non host plants from

- leguminosae family. *Journal of Applied Entomology*. 119 (1–5):195–199.
- Horler DF. 1970. (-)-Methyl n-tetradeca-trans-2, 3,5-trienoate an allenic ester produced by the male dried bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say. *Journal of Chemical Society C*. 859–862.
- Kellouche A, Soltani N. 2004. Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles à l'égard de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *International Journal of Tropical Insect Science*. 24(1): 184–191.
- Labeyrie V. 1962. Les *Acanthoscelides*. In: Balachowsky AS, editor. *Entomologie appliquée à l'agriculture*. Vol. 1. Paris: Masson. p. 469–490
- Nazzi F, Vidoni F, Frilli F. 2008. Semiochemicals affecting the host-related behavior of the dry bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*. 44:108–114.
- Nicole CM. 2002. Les relations des insectes phytophages avec leurs plantes hôtes. *Antennae*. 9(1): 5–9.
- Norin T. 2007. Semiochemicals for insect pest management. *Pure Applied Chemistry*. 79:2129–2136.
- Oomah BD, Liang LSY. 2007. Volatile compounds of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Foods Human Nutrition*. 62:177–183.
- Parsons DMJ, Credland PF. 2003. Determinants of oviposition in *Acanthoscelides obtectus*: a non conformist bruchid. *Physiological Entomology*. 28:221–231.
- Pemonge J, Pascual-Villalobos MJ, Regnault-Roger C. 1997. Effects of material and extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. against the stored product pests *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*. 33:209–217.
- Phillips TW, Cogan PM, Fadamiro HY. 2000. Pheromones. In: Subramanyam B, Hagstrum DW, editors. *Alternatives to pesticides in stored product IPM*. Boston. MA: Kluwer Academic. p. 273–302.
- Reddy GVP, Guerrero A. 2004. Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Sciences*. 9:253–261.
- Regnault-Roger C, Ribodeau M, Hamraoui A, Bureau I, Blanchard P, Gil-Munoz MI, Barberan FT. 2004. Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *A. obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*. 40:395–408.
- Ryne C. 1999. The function of pheromones and their use in IPM of stored product moths and beetles. *Introductory paper n° 110*. Lund (Sweden): Department of Eco` Iqlogy, Chemical Ecology, Lund University.
- Sankara F, Dabire LCB, Dugravot S, Cortesero AM, Sanon A. 2012. Capacités de discrimination des femelles de quatre souches de *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae pour la localisation de l'hôteet la ponte au dépens d'hôtes secondaires. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 6:1303–1315.
- Szentesi A. 1981. Pheromone-like substances affecting host-related behavior of larvae and adults in the dry bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*. *Entomologie Expérimentale et Appliquée*. 30:219–226.
- Szentesi A. 2003. Resource assessment and clutch size in the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus*. *Pest Management Science*. 59:431–436.
- Thöming G, Larsson BS, Anderson P. 2013. Comparison of plant preference hierarchies of male and female moths and the impact of larval rearing hosts. *Ecology*. 94:1744–1752.
- Thöming G, Norli HR, Saucke H, Knudsen GK. 2014. Pea volatiles guide host location behavior in the pea moth. *Arthropod–Plant Interactions*. 8:109–122.
- Visser JH. 1986. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. 31:121–144.
- Vet LEM, Van Lenteren JC, Heymans M, Meelis E. 1983. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiological Entomology*. 8:97–106.

Résumé

L'étude de l'effet bioinsecticide des poudres végétales et des huiles essentielles de plusieurs plantes aromatiques présentes en Algérie sur les adultes de la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* ont été testées par contact uniquement. Les poudres de fève, basilic et laurier noble réduisent considérablement la longévité des adultes alors que la poudre de thym s'est montrée la moins efficace sur la bruche du haricot. Les huiles essentielles ont été testées par contact, par inhalation et par répulsion. Celles du bergamotier, thym, menthe et laurier noble sont les plus efficaces par contact et celles du citronnier et du cèdre le sont moins. Les huiles essentielles et les poudres végétales utilisées par contact permettent de protéger les graines de haricot en diminuant les pertes pondérales et en préservant leur faculté germinative. Il ressort globalement que les huiles qui manifestent une toxicité par contact sont aussi les plus toxiques par inhalation et par répulsion. Dans un autre volet, l'étude du comportement de la bruche sur quelques cultivars de haricot a permis de distinguer les variétés rouge et blanche comme sensibles et la variété de haricot dolique comme répulsive à l'égard des adultes mâles et femelles de la bruche du haricot. L'identification des composés organiques volatils émis par ces différents cultivars en utilisant les méthodes de microextraction en phase solide et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a montré des différences dans les composés volatils émis par chaque variété qui ont par conséquent une signature chimique spécifique.

Mots-clés : *Acanthoscelides obtectus*, *Phaseolus vulgaris*, huiles essentielles, poudres, lutte biologique, COVs.

Abstract

Biopesticide effects of plant powders of several aromatic plants found in Algeria upon bean weevil adults *Acanthoscelides obtectus* were tested by contact only. Broad bean, basil and laurel powders reduce significantly adult longevity while thyme powder proved less effective on the bean weevil. Essential oils have been tested by contact, inhalation and repulsion. Bergamot, thyme, peppermint and laurel essential oils were the most effective and that of lemon and cedar less effective. Our study showed that plant essential oils and powders used by contact allow protecting bean seeds by reducing weight losses and preserving the germination of treated seeds. Generally, oils that exhibit contact toxicity are also the most toxic by inhalation and repulsion. The behavior of the weevil on some bean cultivars has distinguished white and red cultivars as sensitive while cowpea cultivar was repellent against adult males and females of the bean weevil. The identification of volatile organic compounds emitted by the different cultivars using solid phase microextraction method and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) showed differences in volatile compounds emitted by each bean cultivar which therefore have a specific chemical signature.

Keywords: *Acanthoscelides obtectus*, *Phaseolus vulgaris*, essential oils, plant powders, biological control, VOCs.

ملخص

تم اختبار تأثير المبيدات الحيوية من المساحيق النباتية و الزيوت الأساسية لعدة نباتات عطرية موجودة في الجزائر على بالغى سوسة الفاصوليا بالإلتماس فقط. مساحيق أوراق الفول، الریحان والغار، تقبل إلى حد كبير طول عمر البالغ في حين أن مسحوق الزعتر أقل فعالية. تم اختبار الزيوت الأساسية بالتماس، إستنشاق و ثنافر وتبين أن زيوت البرغموت، الزعتر، الثعناع والغار هي الأكثر فعالية مقارنة بزيوت الليمون و الأرز. أظهرت دراستنا أن الزيوت الأساسية و المساحيق النباتية المستخدمة بالإلتماس تحمي بذور الفاصوليا بالحد من فقدان الوزن و الحفاظ على قدرتها على الإنتاش. و تبدو أن الزيوت التي تظهر فعالية بالتماس هي كذلك الأكثر سمية بالإستنشاق و الثنافر. بينت دراسة سلوك سوسة الفاصوليا على بعض أصناف الفاصوليا أن الحمراء و البيضاء حساسة أما صنف *Vigna unguiculata* نافر لذكور و إناث السوسة. أظهر تحديد المركبات العضوية المتطايرة المنبعثة من أصناف الفاصوليا باستعمال تقنية SPME-GCMS إختلافا في تركيبها و بالتالي لكل صنف الفاصوليا توقيع كيميائي محدد.

كلمات البحث: *Phaseolus vulgaris*, *Acanthoscelides obtectus* زيوت عطرية، مساحيق، مركبات عضوية متطايرة، مكافحة بيولوجية.