

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département des sciences Agronomiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Agronomiques

Option : Protection des Plantes Cultivées

Sujet

**Activité insecticide de l'huile essentielle du Bigaradier
(*Citrus aurantium* L.) à l'égard de la bruche du haricot
Acanthoscelides obtectus Say (Coleoptera :
Chrysomelidae : Bruchinae)**

Présenté par : ROUDANE Wassila

Devant le jury composé de :

| | | |
|--|------------|-------|
| Présidente : M ^{me} Medjdoub- Bensaad F. | Professeur | UMMTO |
| Promotrice : M ^{me} Goucem-Khelfane K. | MCCA | UMMTO |
| Examinatrice : M ^{me} Chougar S. | MACA | UMMTO |

Promotion : 2017 /2018

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord le bon dieu, le tout puissant de m'avoir donné la chance, la patience, le courage pour achever ce travail.

*Je tiens à exprimer mes remerciements les plus profonds et les plus chaleureux à madame **MEDJDOUB-BENSAAD F.** Professeur à l'université **MOULOUD MAMMERI** de Tizi-Ouzou , pour sa disponibilité et tous les précieux conseils qu'elle m'a prodigué tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Mes remerciements les plus cordiaux s'adressent à ma promotrice Mme **GOUCEM-KHELFANE K.** Maître de Conférences Classe A. Sa simplicité, son honnêteté et son efficacité dans le travail ainsi que sa modestie font d'elle un exemple. Je vous adresse madame l'expression de ma gratitude et respect pour m'avoir encadré et dirigé ce travail.*

*Je remercie très sincèrement Mme **CHOUGAR S.**, maître Assistante classe A à l'**U.M.M.T.O.** Ce fut à la fois un plaisir et une chance d'avoir bénéficié de votre enseignement. Votre bonne humeur votre rigueur, votre énergie et votre esprit d'organisation sont un exemple.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à Mme **ABROUS Hassina**, ingénieur de Laboratoire d'Ecologie des Invertébrés Terrestres pour son aide, sa gentillesse et sa courtoisie. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude.*

*Un très grand merci à Mr **SAMIR MEZANI** maitre assistant classe B à l'**UMMTO** pour l'Analyse statistique.*

Dédicace

Tout d'abord je remercie le bon *dieu* de m'avoir donné la santé pour réaliser ce travail, lequel je dédie à toutes les personnes qui me sont chères:

A mes très chers *parents*, en témoignage de l'amour, du respect et de ma profonde et éternelle gratitude que je leur porte en ma reconnaissance pour leur soutien, je ne les remercierai jamais assez, pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

A Monsieur *PONTHIER GERARD*, en reconnaissance de son soutien permanent, sa précieuse aide, ses encouragements et ses conseils ont été pour moi un solide réconfort dans tous les moments...

A ma très chère amie *Nabila*, pour tout ce qu'elle a fait pour moi.

Dieu vous accorde longue vie.

Wassila

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

1

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

1. Position systématique

3

2. Description de l'espèce

3

2.1. Feuilles

3

2.2. Fleurs

4

2.3. Gousses

4

2.4. Graines

4

3. Origine

5

4. Les différents types de croissance du haricot

5

5. Valeur nutritionnelle

5

6. Intérêt agronomique

6

7. Intérêt économique

7

8. Maladies et ravageurs

7

8.1. Les principales maladies du haricot

8

8.2. Les insectes ravageurs

9

Chapitre II: Présentation de l'insecte *Acanthoscelide obtectus*

1. Systématique

11

2. Description de l'espèce

11

3. Le dimorphisme sexuel

13

4. Le cycle de développement

14

5. Pertes et dégâts

16

6. Moyens de lutte

16

6.1. Lutte biologique

16

6.2. La phytothérapie

17

6.3. Les huiles essentielles

18

6.3.1. Définition

18

6.3.2. Effet physiologique et physique

18

6.3.3. Caractères physico-chimiques

20

6.3.4. Composition chimique

20

6.3.5. Action des huiles essentielles

21

Chapitre III: Matériel et méthodes

1. Matériel utilisé

22

1.1. Matériel de laboratoire

22

| | |
|-------------------------------------|----|
| 1.2. Matériel biologique | 23 |
| 1.2.1. Les bruches | 23 |
| 1.2.2. Les graines de haricot | 23 |
| 1.2.3. <i>Citrus urantium</i> L | 23 |
| 2. Méthodes | 25 |
| 2.1. Elevage de masse | 25 |
| 2.2. Tests biologique | 25 |
| 2.2.1. Traitement par contact | 25 |
| 2.2.2. Les paramètres évalués | 26 |
| 2.2.2.1. Les paramètres biologiques | 26 |
| 2.2.2.2. Paramètres agronomiques | 28 |
| 2.2.3. Test par répulsion | 29 |
| 2.2.4. Test d'inhalation | 30 |
| 3. L'analyse statistique | 31 |

Chapitre IV: Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| 1. Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle par contact | 32 |
| 1.1. Action sur la mortalité des adultes | 32 |
| 1.2. Action sur la fécondité des femelles | 36 |
| 1.3. Action sur l'éclosion des œufs | 38 |
| 1.4. Action sur l'émergence des adultes | 40 |
| 1.5. Action sur la perte en poids des graines | 42 |
| 1.6. Action sur la faculté germinative des graines | 43 |
| 2. Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle par répulsion | 45 |
| 3. Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle par inhalation | 47 |

| | |
|-------------------|----|
| Conclusion | 50 |
|-------------------|----|

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tableau 1. | Composition nutritive (par 100g de produit comestible) du haricot sec en comparaison avec celle du haricot vert (Anonyme, 2009). | 6 |
| Tableau 2. | Quelques espèces de plantes tropicales testées sur les bruches pour leurs activités insecticides (Nagamo et Hance, 2007). | 17 |
| Tableau 3. | Activités de quelques monoterpènes des huiles essentielles sur <i>Acanthoscelide obtectus</i> (Coleoptera: Bruchidae) (Ngamo et Hance, 2007). | 19 |
| Tableau 4. | Principaux composés chimiques(%) de l'huile essentielle extraite de l'orange amère obtenus par chromatographie en phase gazeuse (Fiche Technique, 2016). | 25 |
| Tableau 5. | Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et al (1970). | 30 |
| Tableau 6. | Résultat du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère sur la mortalité des adultes d' <i>A. obtectus</i> . | 33 |
| Tableau 7. | Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition à l'huile essentielle d'orange amère sur la mortalité des adultes d' <i>A. obtectus</i> . | 34 |
| Tableau 8. | Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère, sur la fécondité des adultes d' <i>A. obtectus</i> . | 37 |
| Tableau 9. | Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère sur l'émergence des adultes d' <i>A. obtectus</i> . | 41 |
| Tableau 10. | Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère, sur la perte en poids des graines de haricot. | 43 |
| Tableau 11. | Résultats du test Newman et Keuls concernant l'effet d'huile essentielle d'orange amère, sur la germination des graines de haricot. | 45 |
| Tableau 12. | Classement de l'huile essentielle d'orange amère selon ses propriétés répulsives par la méthode de Mc Donald et al.(1970). | 46 |
| Tableau 13. | Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile d'orange amère, sur la mortalité des adultes d' <i>A. obtectus</i> traités par inhalation. | 48 |
| Tableau 14. | Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur temps d'exposition par inhalation à l'huile essentielle d'orange amère, sur la mortalité des adultes d' <i>A. obtectus</i> . | 48 |

Liste des figures

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figure 1. | Aspect Morphologique de <i>Phaseolus vulgaris</i> (Anonyme, 2009) | 4 |
| Figure 2. | Œufs d' <i>A. obtectus</i> observés à la loupe binoculaire (G: 2 ×10) (Originale, 2017). | 12 |
| Figure 3. | Différents stades larvaires chez <i>A. obtectus</i> observés à la loupe binoculaire (G:2X10) (Goucem-Khelfane, 2014). | 12 |
| Figure 4. | Vue ventrale de la Nymphe d' <i>A. obtectus</i> (Goucem- Khelfane, 2014). | 13 |
| Figure 5. | Dimorphisme sexuel chez l'adulte d' <i>A. obtectus</i> (G2 x10) (Originale, 2017). | 14 |
| Figure 6. | Cycle de vie d' <i>A. obtectus</i> sur les graines du haricot dans les conditions de laboratoire (Hamdani, 2012). | 15 |
| Figure 7. | Aspect des dégâts d' <i>Acanthoscelides obtectus</i> dans les stocks (Originale, 2017). | 16 |
| Figure 8. | Matériel utilisé au laboratoire (Originale, 2017). | 22 |
| Figure 9 . | L'huile essentielle d'orange amère (Originale, 2017). | 24 |
| Figure 10. | Test par contact pour les différentes doses d'huile essentielle d'orange amère testée contre <i>A. obtectus</i> et son témoin (Originale, 2017). | 27 |
| Figure 11. | Test de germination des graines du haricot traitées par contact par différentes doses d'huile essentielle de l'orange amère à l'égard d' <i>A. obtectus</i> (Originale, 2017). | 28 |
| Figure 12. | Dispositif expérimental du test de répulsion pour les différentes doses d'huile essentielle et leurs témoin (Originale, 2017). | 29 |
| Figure 13. | Test d'inhalation de l'huile essentielle d'orange par différentes doses à l'égard des adultes d' <i>A. obtectus</i> (Originale, 2017). | 31 |
| Figure 14. | Mortalité moyenne des adultes d' <i>A. obtectus</i> après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose et du temps d'exposition. | 32 |
| Figure 15. | Fécondité moyenne des femelles d' <i>A. obtectus</i> après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose. | 36 |
| Figure 16. | Taux moyen d'éclosion (%) des œufs d' <i>A. obtectus</i> après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose et du temps d'exposition. | 39 |
| Figure 17. | Taux d'émergence(%) des adultes d' <i>A. obtectus</i> après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose. | 40 |
| Figure 18. | Perte en poids (%) des graines de haricot après traitement d'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose. | 42 |
| Figure 19. | Taux de germination (%) des graines après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose. | 44 |
| Figure 20. | Taux de répulsion (%) des adultes d' <i>A. obtectus</i> après traitement à l'huile d'orange amère en fonction de la dose. | 45 |
| Figure 21. | Mortalité moyenne (%) des adultes d' <i>A. obtectus</i> après traitement à l'huile d'orange amère en fonction de la dose et du temps d'exposition. | 47 |

Les légumineuses alimentaires sont considérées comme des plantes à graines les plus cultivées par l'homme et occupent depuis longtemps une place importante dans l'alimentation humaine (Soltner, 1990). D'après Baudoin (2001), plus de 150 espèces de légumineuses sont cultivées à travers le monde.

Le haricot est une légumineuse à germination épigée, avec des caractéristiques polymorphes des gousses et convient aux zones tropicales et tempérées. Le produit consommé est la gousse produite par la fleur après fécondation autogame. Plusieurs types de haricots existent selon la structure de la gousse (Ibrahima, 2006).

Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.), principal type cultivé pour ses graines, est consommé par 80% des communautés humaines. Denrée peu onéreuse, le haricot couvre plus de 11% des besoins quotidiens en énergie alimentaire des populations tant rurales qu'urbaines, et 22% des besoins en protéines. Il joue donc un rôle important dans l'économie ménagère, dans la formation du capital paysan et dans la sécurité alimentaire des populations (Mushambanyi, 2003).

En Algérie, les haricots secs constituent un élément important dans le modèle de consommation dominant de la population locale. Elles constituent une source d'apport nutritionnel riche en protéines, glucides, minéraux et en fibres susceptibles d'une correction efficace de carence en ces éléments (Gama et al., 2007).

Malheureusement ces plantes se caractérisent très souvent par des rendements faibles et instables. Cela s'explique, en particulier, par leur sensibilité aux contraintes biotique et abiotiques (Geerts et al., 2011). En effet, les cultures de haricots sont sujettes à de nombreuses attaques de ravageurs et maladies qui peuvent entraîner d'importants dégâts en l'absence de moyens de lutte appropriés (Silue et al., 2010).

Les coléoptères Bruchidae, dont les larves ne consomment et ne se développent que dans les graines, ont été l'une des très rares familles à avoir colonisé les graines mûres des légumineuses. Parmi ceux ci, la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say, un insecte cosmopolite potentiellement ubiquitaire qui peut infester sa plante hôte *P. vulgaris* à la fois au champ et dans les stocks ; elle infeste aussi d'autres légumineuses originellement non hôtes, qui sont également des plantes vivrières d'importance économique pour les pays en développement comme le niébé (*Vigna unguiculata*), la fève (*Vicia faba*), le pois chiche (*Cicer arietinum*) (Regnault-Roger et Hamraoui, 1997).

Face à ces problèmes, de nombreuses mesures de lutte sont prises contre ce ravageur dont l'utilisation des insecticides. Bien qu'efficaces, les produits chimiques utilisés sous forme de fumigants ou de poudre à mélanger directement avec les graines présentent souvent des inconvénients. En effet, une utilisation intensive et souvent sans discernement des pesticides s'est accompagnée de désordres écologiques à des multiples niveaux provoquant la pollution des eaux de surface souterraines, la rupture des chaînes trophiques par bioaccumulation ou bioamplification et des phénomènes de résistances (Regnault-Roger, 2002). En plus, le prix élevé de ces pesticides incitent aussi à chercher des méthodes alternatives afin de diminuer leur utilisation (Huignard et *al.*, 2011).

Dans cette optique, les substances d'origine végétale, en particulier les huiles essentielles, ont fait l'objet de nombreuses recherches en vue de réduire les pertes occasionnées par les insectes ravageurs des grains stockés par leurs effets insecticides vis-à-vis des Bruchidae (Kellouche et Soltani, 2004; Bouchikhi Tani, 2006; Goucem-Khelfane, 2014).

Dans ce contexte et à travers cette présente étude, nous nous sommes proposés de tester l'effet biocide de l'huile essentielle des zestes du fruit du bigaradier (Orange amère) sur des adultes d'*A. obtectus* par contact, inhalation et répulsion.

Cette étude comprend quatre chapitres structurés comme suit:

Les deux premiers chapitres portent sur l'étude bibliographique de la plante hôte *P. vulgaris* et de l'insecte ravageur *A. obtectus* et le troisième chapitre présente le matériel utilisé et les méthodes adoptées. Le dernier chapitre est consacré à la présentation, à l'analyse et à la discussion des résultats obtenus, le travail est clos par une conclusion générale, suivie de quelques perspectives de recherche.

Le haricot commun *P. vulgaris* est l'une des cultures les plus anciennes au monde, très importante d'un point de vue économique, social et alimentaire dans de nombreux pays, et plus particulièrement en Amérique du Sud, Afrique et Asie (Nyabyenda, 2005). Le haricot est une plante de climat chaud nécessitant des températures assez élevées et une bonne luminosité, se sont des plantes herbacées, annuelles diploïdes au nombre chromosomique de $2n=22$, dont le cycle est de 90 à 120 jours (Péron, 2006).

1. Position systématique

Selon Guignard (1998), la position systématique du haricot commun est la suivante:

| | |
|---------------------|------------------------------|
| Règne: | Végétal |
| Embranchement: | Spermatophytes |
| Sous embranchement: | Angiospermes |
| Classe: | Dicotylédones |
| Ordre: | Fabales |
| Famille: | Fabacées |
| Genre: | <i>Phaseolus</i> |
| Espèce: | <i>Phaseolus vulgaris</i> L. |

2. Description de la plante

L'espèce *P. vulgaris* est une plante constituée par l'assemblage de trois organes fondamentaux : la tige, les feuilles et les racines, formant ensemble l'appareil végétatif tandis que les deux organes qui sont le fruit et la fleur forment ensemble l'appareil reproducteur (Chaux et Foury, 1994).

2.1. Feuilles

Les feuilles du haricot commun sont entières, légèrement pubescentes à trois nervures qui partent de la base. Cette plante possède deux types de feuilles ; elle forme sur le deuxième nœud deux premières feuilles appelées feuilles primaires et à partir du troisième nœud elle développe les feuilles typiques du haricot (Guignard, 1998).

D'après Gallais et Bennfort (1992), les deux premières feuilles sont simples et s'attachent face à face sur la tige alors que toutes celles qui suivent sont trifoliolées disposées

d'une façon alterne, habituellement ovales et mesurent entre 7,5 et 14 cm de long sur 5,5 à 10 cm de large, les folioles latérales sont asymétriques, la centrale est symétrique (Figure 1.a).

2.2. Fleurs

Les fleurs de haricot présentent l'architecture propre à la famille des Fabacées. Elles sont portées sur des grappes axillaires courtes, de 4 à 10 fleurs. La corolle papilionacée, présente un étendard verdâtre à carmin, deux ailes blanches à lilas et une carène de même couleur. Chez le haricot, la fleur reste naturellement fermée. Exceptionnellement, certains hyménoptères (bourdons) parviennent à forcer l'obstacle de la corolle, permettant ainsi l'introduction d'un pollen étranger dans la fleur (Figure 1.b) (Chaux et Foury, 1994).

2.3. Gousses

Selon Guignard (1998), les gousses sont allongées, leur couleur varie selon les cultivars, du vert pâle au vert foncé. Elles sont parfois tachées de couleurs diverses à maturité et peuvent être renforcées par des fibres ligneuses formant un parchemin sur les côtés (Figure 1.c).

2.4. Graines

Elles sont réniformes, arrondies à ovales plus ou moins allongées. Le tégument peut être noir, blanc ou revêtu de différentes nuances de jaune, brun, rouge, ou rose selon les variétés (Chaux et Foury, 1994) (Figure 1d).

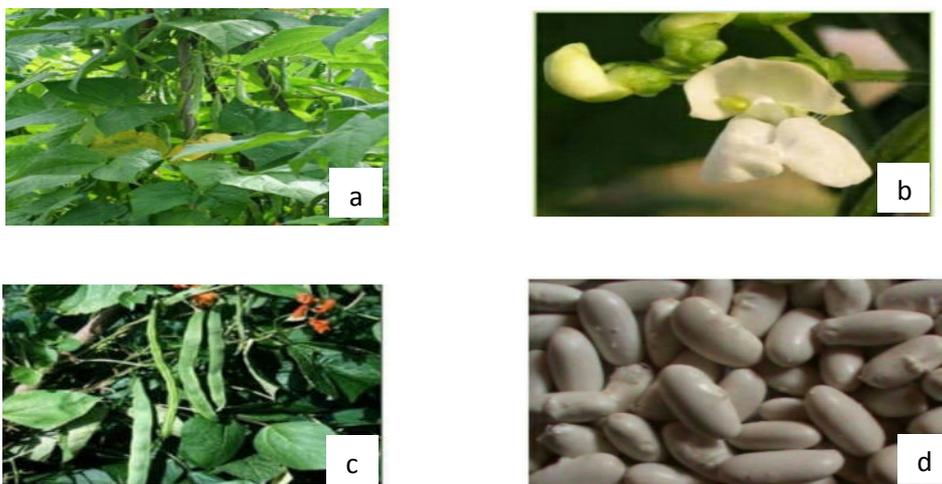


Figure 1. Aspect Morphologique de *Phaseolus vulgaris* (Anonyme, 2009).

3. Origine

Selon Marx (1986), le haricot est originaire d'Amérique du sud de sa zone tropical de moyenne montagne. La culture du haricot se fait en Italie dès le 17^{ème} siècle puis en Grèce , en Turquie et en Iran. Alors que pour l'Afrique, le haricot est produit principalement en Afrique Centrale et Orientale (Nyabyenda, 2005).

4. Les différents types de croissance du haricot

Les haricots peuvent être subdivisés en haricots nains (à croissance déterminée), haricots semi-volubiles et haricots volubiles ((Marx, 1986).

Selon Nyabyenda (2005), les variétés du haricot sont classée en quatre groupe selon leur type de croissance, qui dépend notamment de la caractéristique du bourgeon terminal:

- **Type I:** haricots nains à croissance déterminée.
- **Type II:** haricot semi-volubiles à croissance indéterminée, avec peu de ramifications et ne grimpe pas.
- **Type III:** haricots semi-volubiles à croissance indéterminée, avec beaucoup de ramifications et ayant l'aptitude de grimper (type IIIb) ou non (type IIIa).
- **Type IV:** haricots volubiles type grimpeur à croissance indéterminée, avec des gousses bien réparties sur toute la plante (type Iva) ou avec des gousses concentrées sur la partie supérieure de la plante seulement (IVb).

5. Valeur nutritionnelle

La consommation des haricots se fait sous trois formes : en grains secs, en grains frais ou en gousses (haricots verts), les protéines des haricots sont intéressantes par leur teneur en certains acides aminés essentiels, notamment la lysine, et dans une moindre mesure la méthionine et le tryptophane (Gordon, 2000).

Les haricots présentent un intérêt dans l'alimentation humaine. Comme beaucoup de légumineuses à graines, ils apportent un sentiment de satiété. Ils sont riches en fibres et en minéraux (Nyabyenda, 2005). Leur indice glycémique est faible (Gordon, 2000; Ibrahima, 2006). La richesse naturelle des graines de haricots en matière azotée assimilable en fait un légume de grande valeur nutritive (Laumonier, 1979). Ils sont une excellente source d'énergie, puisqu'ils sont riches en glucides complexes et fournissent une grandes quantité de vitamine B, de calcium, de fer, de phosphore, de potassium et de zinc. Leur consommation

contribue à faire baisser le taux de cholestérol et également à l'abaissement du risque d'accident cardio-vasculaire (Gordon, 2000) (Tableau1).

Tableau 1. Composition nutritive (par 100g de produit comestible) du haricot sec en comparaison avec celle du haricot vert (Anonyme, 2009).

| Détermination | Haricot sec | Haricot vert |
|---------------------------|-------------|--------------|
| Eau | 1.7% | 89.6% |
| Vitamine A | / | 67% |
| Vitamine B | Trace | 24% |
| Vitamine B1 | 0.5 mg | 0.06% |
| Vitamine B2 | 0.15 mg | 0.1 mg |
| Acide folique | / | 60 mg |
| Vitamine E | / | Trace |
| Hydrate de carbone | 52.2% | 5% |
| Protéines | 19% | 2.3% |
| Lipides | 1.4% | 0.2% |
| Fibres | 25.4% | 2.9% |
| Calcium | 56 mg | 40 mg |
| Fer | 7.1 mg | 0.9 mg |
| Sodium | 95 mg | 2 mg |
| Magnésium | 78 mg | 26 mg |
| Zinc | 3.1 mg | 0.2 mg |
| Iode | 2 mg | 32 mg |
| Potassium | 737 mg | 280 mg |
| Valeur énergétique | 285 cal | 30 cal |

6. Intérêt agronomique

Les cultures de Légumineuses permettent d'enrichir le sol en azote. L'haricot fait partie du groupe des cultures capables de fixer et d'utiliser l'azote atmosphérique grâce aux bactéries du genre *Rhizobium* situé dans les nodosités (Balon et Kimon, 1985).

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'autres éléments minéraux (Gordon, 2000).

Selon Fao (2006), les résidus des légumineuses sont plus riches en azote et contribuent à enrichir le sol en cet élément ainsi les cultures succédant peuvent aussi bénéficier indirectement de l'azote fixé par ces légumineuses. Ainsi elles permettent d'économiser des tonnes d'engrais azotés (Cavaillès, 2009).

Dans les sols très pauvres en azote, telles que les zones tropicales, les Légumineuses peuvent être efficaces comme alternative à la fertilisation notamment dans les pays en voie de développement (Roland, 2002).

7. Intérêt économique

Le haricot représente une source de revenus importante pour des millions de personnes notamment dans les milieux ruraux. Il constitue la principale Légumineuse alimentaire de plus de 300 millions de personnes en Amérique latine, en Afrique centrale et en Afrique de l'Est (Gordon, 2000). En 2006, la production mondiale de haricot vert est estimée à 28.6 millions de tonnes pour un rendement moyen de 7.4 tonnes par hectare (FAO, 2006). La production mondiale de haricot sec en 2007 était estimée à 19.29 millions de tonnes. La surface totale consacrée à cette production représentait environ 26.92 million d'hectares pour un rendement moyen de 0.72 t.ha⁻¹. Le rendement moyen en Amérique du Nord et dans l'Union européenne était de 1.63 t.ha⁻¹ et pour l'Afrique, il n'était que de 0.59 t.ha⁻¹ (Silué et *al.*, 2009).

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. En 2009, 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.

8. Maladies et insectes ravageurs

Selon Dupont (1990), le haricot commun est extrêmement sensible aux maladies et aux ravageurs et on estime que plus de 50% de la production est perdue chaque année en

Afrique tropicale. Ces bioagresseurs nuisent au rendement, à la qualité des graines et à la commercialité des haricots.

8.1. Les principales maladies du haricot

D'après Messiaen (1998), les maladies des plantes peuvent être provoquées par des organismes de natures très diverses (Virus, bactéries et champignons).

- **Anthraxose**

Selon Dupont (1990), l'anthraxose du haricot, causée par le champignon *Colletotrichum lindemuthianum*, est répandue presque mondialement, elle est caractérisée par la présence sur les feuilles des décolorations rougeâtres; sur les gousses, ces taches sont isolées ou continentes, d'un brun grisâtre. Les feuilles et les tiges des plantes atteintes de cette maladie ne tardent pas à se flétrir, puis finissent par dépérir par un ralentissement rapide de la nutrition. Les gousses ordinairement, restent vides ou ne renferment que quelques grains tachés eux même par le cryptogame.

- **Rouille**

La rouille du haricot est un champignon microscopique, *Uromyces phaseoli*, de la famille des Urédinées dont les symptômes apparaissent dans un premier temps sur feuilles. En Europe de forte humidité, l'ensemble du feuillage peut être affecté et se dessécher (Dupont, 1990). Les symptômes de la rouille du haricot se manifestent par l'apparition des pustules pulvérulentes brunâtres, puis noirâtre groupées en amas sur les deux faces des folioles (Chaux et Foury, 1994), un choix judicieux des parcelles et l'utilisation de variétés résistantes permettent une maîtrise du développement de la maladie. En dernier recours, un programme fongique préventif peut être appliqué (Roland, 2002).

- **Fonte des semis**

Les plantules émergentes présentent des racines nécrosées, noires, et flétrissent rapidement. Dans les zones adjacentes apparemment saines, les nécroses racinaires peuvent avoir un impact sur le développement des plantes et sur les rendements commerciaux. Afin de limiter les attaques. Il est important de bien respecter les rotations culturales et d'éviter les précédents des plantes sujettes à ces maladies (Gama et al, 2007).

- **Graisse du haricot**

La bactérie responsable est *Pseudomonas syringae*. Les symptômes de cette maladie apparaissent sur les feuilles par des petites nécroses avec grand halo jaune pale, alors que sur les gousses ils apparaissent par des grandes taches rondes en taches d'huile (Chaux et Foury, 1994).

8.2. Les insectes ravageurs

Le haricot est soumis à des attaques d'une gamme assez variée d'insectes qui limitent sa production (Dupont, 1990).

- **Les pucerons**

Selon Gordon (2000), outre les dommages directs sur plante (mouvais développement), la présence de puceron provoque l'appariation de miellat, substance sécrétée par ces insectes favorisant le développement de fumagine, un champignon de couleur noire. Le miellat et la fumagine déprécient la qualité des récoltes. En outre, le puceron présent sur les cultures est un facteur important de transmission de maladies virales.

- **Mouche des semis (*Delia olatura*)**

Cotylédons rongés, bourgeons détruit par des asticots blancs pouvant atteindre 8mm (Dupont, 1990). Souvent, la plantule se déforme et pourrit en terre. L'adulte est une mouche gris-jaunâtre un peu plus petit que la mouche domestique (Chaux et Foury, 1994). L'utilisation de semences traitées permet en règle générale de maîtriser les dommages causés par ce ravageur (Gama, 2007).

- **Bruche du haricot (*Acanthoscelide obtectus*)**

Dans les denrées conservées, présence du coléoptère grisâtre (sur les grains) ou de larves blanchâtres à l'intérieur des grains et qui provoque la perte de la faculté germinative des graines de semence (Chaux et Foury, 1994).

- **Araignée rouge, acariens**

La grise est un petit arachide (*Tetranychus telarius*) de l'ordre des acariens, également connue sous le nom de mite. Les jardiniers et horticulteurs l'appellent le plus souvent l'araignée rouge ou la grise, ce nom faisant allusion à la teinte grise que prennent les végétaux

envahis par ces petits insectes, tandis que le nom araignée rouge se rapporte à la couleur de ces derniers (Dupont, 1990). Les fortes attaques d'araignées rouges pénalisent le développement des plantes et par conséquent les récoltes. Les conditions climatiques rencontrées en zones chaudes et sèches favorisent le développement de ce ravageur (Gama, 2007).

- **Nématodes à galles**

Le développement de nématodes sur le système racinaire pénalise la croissance des plantes. Des rotations bien conduites et des travaux du sol adaptés permettent de limiter l'impact de ce ravageur sur les cultures de haricot vert (Roland, 2002).

Acanthoscelides obtectus est un ravageur des zones tropicales et subtropicales qui a suivi l'importation récente du haricot de l'Amérique Centrale vers l'Europe, son aire d'expansion s'est développée de l'Espagne à l'Ukraine, au milieu du XIX^{ème} siècle jusqu'au début du XX^{ème} (Serpeille, 1991).

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 (Gentry, 1969).

1. Systématique

Selon Balachowsky (1962), la bruche du haricot occupe la position systématique suivante :

| | |
|----------------------|--|
| Règne : | Animal |
| Embranchement : | Arthropodes |
| Sous embranchement : | Antennates |
| Classe : | Insectes |
| Sous classe : | Ptérygotes |
| Ordre : | Coléoptères |
| Famille : | Bruchidae (Chrysomelidae) |
| Genre : | <i>Acanthoscelides</i> |
| Espèce : | <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say (1831) |

2. Description de l'espèce

C'est une espèce cosmopolite inféodée au genre végétal *Phaseolus*; elle a été décrite par « Say » sous le nom spécifique *obtectus*. C'est un insecte court et ovalaire, de 3 à 5mm de long et 2 à 3mm de large, le corps de couleur généralement brun fuligineux foncé, est couvert de soies brillantes à dominante grise, couchées vers l'arrière (Khelil, 1977).

Elle fait partie des bruches se développant dans les graines mûres, dures et sèches, conservées dans les entrepôts. Cette bruche appartient au groupe de bruches multivoltines, de sorte que si les graines sont entreposées dans un endroit particulièrement chaud, deux à trois générations peuvent se succéder dans l'année.

La bruche du haricot est une espèce holométabole et passe par quatre stades de développement différents: l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte (Bonnemaison, 1962).

- **L'œuf**

Les œufs d'*A. obtectus* sont de forme cylindrique. Ils mesurent 0,75 mm de long, étroits, avec un pôle antérieur légèrement plus large que le postérieur, blancs et lisses (Balackowsky, 1962). La figure 2 illustre l'aspect des œufs d'*A. obtectus*.

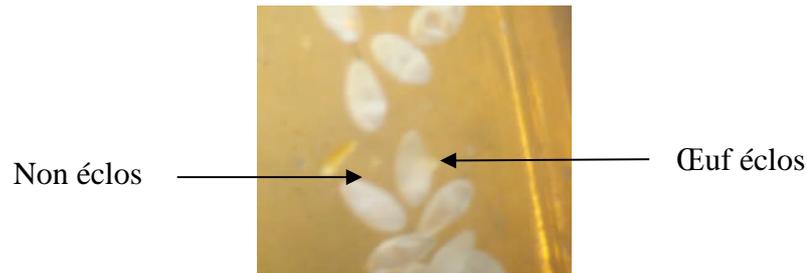


Figure 2. Œufs d'*A. obtectus* observés à la loupe binoculaire (G: 2 ×10) (Originale, 2017)

- **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. 3). Elle est pourvue de pattes fines et de plaques prothoracique et anale caractéristiques (Labeyrie, 1962). A la suite d'une mue, la L1 change d'aspect et perd avec l'exuvie larvaire ses pattes; elle deviendra alors apode, glabre et prend le nom de larve secondaire (Goix, 1986). La larve L2 subira deux autres mues pour donner naissance aux larve L3 et L4 (Khelil,1977) (Figure3).

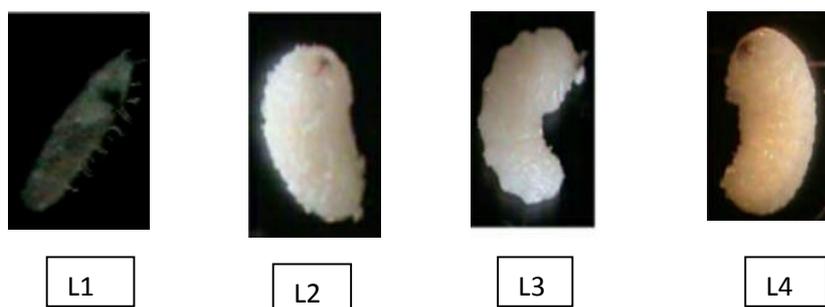


Figure 3. Différents stades larvaires chez *A. obtectus* observés à la loupe binoculaire (G:2X10) (Goucem-Khelfane, 2014).

- **La nymphe**

Le développement larvaire se termine par la fabrication soignée d'une loge nymphale juste sous le tégument. Dans ce stade d'immobilité, la larve se transforme en un jeune imago qui subit encore des phénomènes de sclérotinisation et de pigmentation (Figure 4). La nymphose dure de 15 à 18 jours (Labeyrie, 1962).

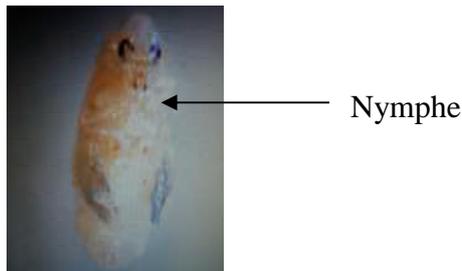


Figure 4. Vue ventrale de la Nympe d'*A. obtectus* (Goucem- Khelfane, 2014).

- **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.

3. Le Dimorphisme sexuel

Chez *A. obtectus* la détermination du sexe des adultes, se fait d'après l'aspect de la partie postérieure de l'abdomen, soit en vue ventrale ou de profil (Figure 5).

D'après Balachowsky (1962), la différence entre le mâle et la femelle 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) où le pygidium échancre largement son dernier anneau ventral alors que ce dernier reste entier chez la femelle ; ce caractère est bien apparent chez la bruche du haricot.



Figure 5. Dimorphisme sexuel chez l'adulte d'*A. obtectus* (G2 x10) (Originale, 2017).

4. Le Cycle de développement

La bruche de haricot peut évoluer dans deux milieux totalement déférents: d'une part dans les cultures et d'autre part dans les graines entreposées (Balachowsky, 1962), de ce fait, elle est considérée comme la bruche la plus nuisible d'Europe et du bassin méditerranéen (Goix, 1986). En effet, dans les conditions naturelles, *A. obtectus* développe une seule génération dans le champ, et 3 à 5 génération dans les entrepôts de stockages où elle trouve une température convenable pour son développement (30°C) (Sanon et al., 2002).

L'accouplement commence quelques heures après l'émergence des adultes, qui hivernent à l'intérieur des graines de haricot et sortent de celles-ci à la fin de mois d'Avril: ils ne s'alimentent pas (Bonnemaison, 1962 in Kassemi, 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 et parfois plus (Balachowsky, 1962). Pour l'insecte, la température et l'hygrométrie influent sur la fécondité, la maturation des ovaires, la longévité des adultes, la période de ponte, ainsi, les conditions favorables à la reproduction de l'insecte sont une température de 20 à 30°C et une hygrométrie moyenne de 50% qui accélèrent la rapidité des cycles (Serpeille, 1991)

Suivant la température, la durée d'incubation est de 6 jours, la L1 possède, outre un ovipositeur caractéristique, des pattes développées et fonctionnelles (Delobel, 1993). Elle circule quelques heures à la surface de la graine puis traverse celle-ci, elle pénètre dans la graine 3 jours après sa naissance (Franssen, 1956). La larve L1 mue et se transforme en une larve apode. La durée du développement larvaire est très variable, elle est de 3 semaines en moyenne (Figure 6). La larve L2 est très arquée et son développement dure trois à quatre jours pour devenir une L3.

Les larves L3 et L4 sont de taille plus importante. La durée du stade larvaire L3 est analogue à celle de L2, tandis que celle de L4 est de quatre à cinq jours.

La nymphe est au départ blanchâtre (Prénympe), elle porte sur sa face ventrale l'exuvie de la L4, elle est d'une forme distincte de celle des larves. Plus elle se développe, plus sa morphologie se rapprochera de celle de l'adulte. La nymphose dure 12 à 13 jours environs. La durée du cycle de développement de la bruche *A. obtectus* est de 30 ± 2 jours sur les graines de haricot de la variété rognon blanc (Bouchikhi Tani, 2006).

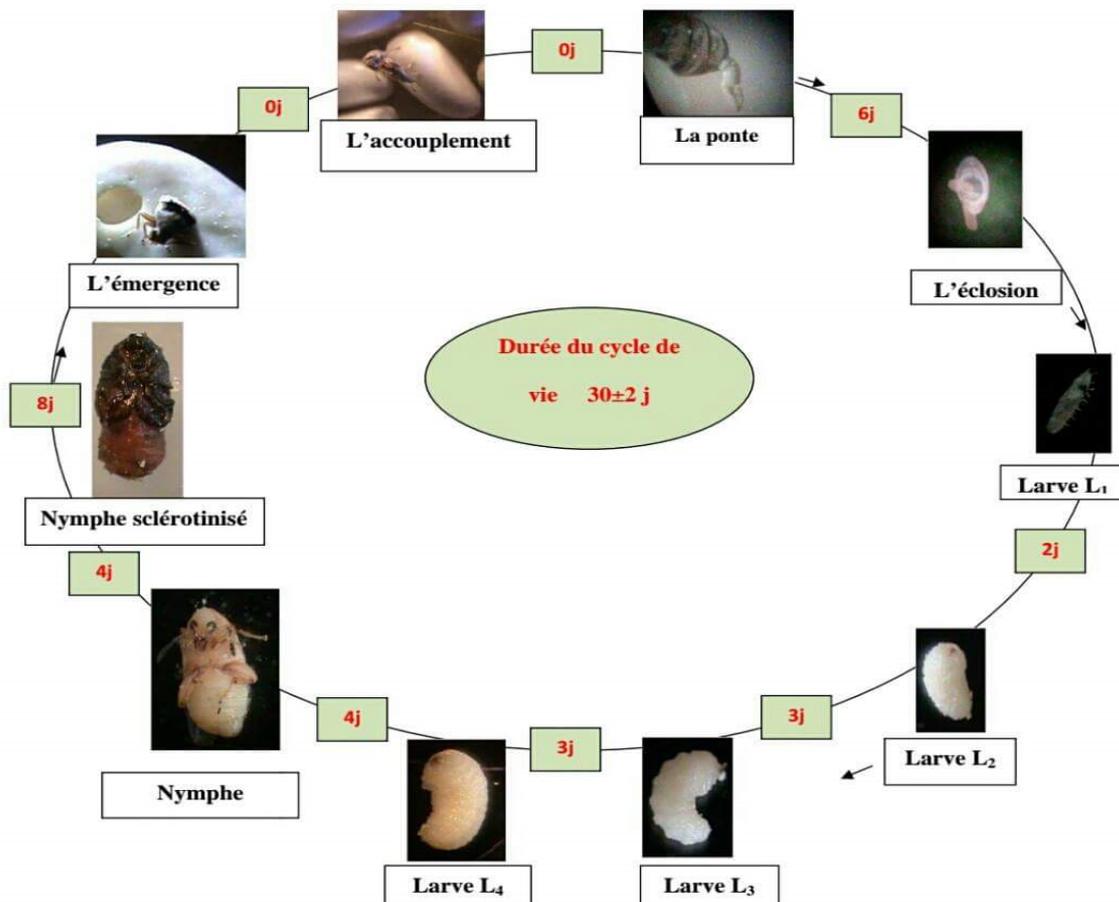


Figure 6. Cycle de vie d'*A. obtectus* sur les graines du haricot dans les conditions de laboratoire (Hamdani, 2012).

5. Pertes et dégâts

Acanthoscelides obtectus est un insecte cosmopolite dont les dégâts sont signalés dans le monde entier. En effet, la presque totalité des zones de culture des *Phaseolus*, où le climat permet l'activité d' *A.obtectus* dans la nature sont actuellement envahies (Goix, 1986). En effet les pertes après récolte dues aux attaques de ces insectes ravageurs nuisibles peuvent être considérées sous deux aspects différents: au plan quantitatif et au plan qualitatif. La perte quantitative se traduit par la réduction du poids et du volume des graines attaquées par ces insectes pour s'en nourrir (Figure 7). La partie de l'albumen des graines attaquées par les bruches est détruite après le développement des larves et les graines fortement endommagées se délitent (Idi, 1994). Sur le plan qualitatif, les attaques d'insectes se traduisent généralement par une diminution de la valeur nutritive et la capacité germinative (Huignard et *al.*, 2011).



Figure 7. Aspect des dégâts d'*Acanthoscelides obtectus* dans les stocks (Originale, 2017).

6. Moyens de lutte

Face à l'ampleur des dégâts causés par les bruches, une panoplie de méthodes sont utilisées pour éradiquer ce ravageur potentiel des graines de haricot ou au moins maintenir le niveau des attaques à un seuil économiquement acceptable (Kasambala et Hendry, 1986).

6.1. Lutte biologique

La lutte biologique est une méthode qui consiste à détruire les insectes nuisibles par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels appartenant soit au règne animal soit au règne végétal (Gueye et *al.*, 2010).

Les lieux de stockage étant des espaces clos, ils sont d'excellents modèles pour l'utilisation des auxiliaires (Vanhuys, 1991).

Selon Huignard et ces collaborateurs (2011), les ennemis naturels d'*A. obtectus* sont les Hyménoptères parasitoïdes tels que *Stenocorse bruchivora* (Braconidae) et *Dinarmus basalis*, qui sont présent dans le système de stockage en Amérique du sud. Alors que Parker (1957), cité par Bouchikhi Tani (2006) stipule que le principale parasite d'*A. obtectus* est *Anisopteromalus calandroe* (Heromalidae) et Bonnemaïson (1962) affirme que les larves sont attaquées par l'*Acarien pyemotes* (Pediculoides).

6.2. La phytothérapie

Les plantes indigènes sont utilisées contre les ravageurs pour leurs effets répulsif et de contact (Ngamo et Hance, 2007). Les molécules actives peuvent varier d'une famille à une autre et à l'intérieur d'une même famille et la sensibilité peu différer pour un insecte donné d'un stade à un autre (Gueye et *al.*, 2011).

Selon Dorée (2000), plusieurs plantes aromatiques sont utilisées pour protéger les graines entreposées sous forme de poudres obtenues par broyage des différents organes, de plante séchées à une température ambiante de 26 à 28° C (Tableau 2).

Tableau 2. Quelques especes de plantes tropicales testées sur les bruches pour leurs activités insecticides (Nagamo et Hance, 2007).

| Familles | Noms | Familles | Noms |
|----------------|--|---------------|--|
| Lamiaceae | <i>Ocimum canum</i> <i>O. basilicum</i> <i>Hyptis suaveolens</i> | Poaceae | <i>Cymbopogon citratus</i> <i>C. shoenanthus</i> <i>Echinops giganteus</i> |
| Umbelliferaeae | <i>Diplophium africanum</i> | Zingiberaceae | <i>Zingiber officinales</i> <i>Aframomum melegueta</i> |
| Rutaceae | <i>Citrus paradisiaca</i> <i>C. limon</i> | Myrtaceae | <i>Eucalyptus citriodora</i> <i>E. tereticomis</i> |
| Meliaceae | <i>Cedrela odorata</i> <i>Azadirachta indic</i> | Asteraceae | <i>Laggera alata</i> <i>Tagetes erecta</i> |
| Liliaceae | <i>Allium sativum</i> <i>A. cepa</i> | | |

6.3. Les Huiles essentielles

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites aromatiques, c'est -à- dire qu'elles synthétisent et secrètent des infimes quantités d'essence aromatique (Pibiri, 2005).

Les matières premières végétales utilisées pour produire des huiles essentielles sont en principe des plantes ou parties de plantes qui sont à divers états de siccité (forme sèche, flétrie, fraîche) (Desmares et *al.*, 2008).

Selon El Kalamouni (2010), les huiles essentielles servent de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique): attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines, voire communication entre les végétaux (émission de signaux chimiques signalant la présence d'animaux herbivores). Ces huiles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs comme dans la menthe, canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle définitif (Pibiri, 2005). La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 0.1 à 2%, mais il ya des exceptions comme le clou de girofle avec 15% d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15% (Desmares et *al.*, 2008).

6.3.1. Définition

Il n'est pas rare que l'huile essentielle soit nommée essence dans le langage courant, mais l'essence est une substance naturelle secrétée dans la plante par les organes reproducteurs. L'huile essentielle est, quant à elle, le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou des arbres aromatiques, pour en extraire l'essence. Ces deux substances sont différentes par leur nature et par leur composition (Huete, 2012). Donc, les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de defense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plus part des molécules peu complexes (Chiasson et Beloin, 2007).

6.3.2. Effet physiologique et physique

- **Effet physiologique:**

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés

terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant (Pibiri, 2005).

Selon Chiasson et Beloin (2007), les huiles essentielles ont des effets anti-appétant, affectent ainsi la croissance, la mue, la fécondité, et le développement des insectes. Or, linalool, le thymol et le carvacrol ont un effet sur la fécondité et le nombre d'œuf pondus de la bruche du haricot (Tableau 3) et ils inhibent complètement la pénétration des larves dans les grains traités de linalool et de thymol. De plus, ce dernier produit s'est avéré inhibiteur de l'émergence des adultes.

Tableau 3: Activités de quelques monoterpènes des huiles essentielles sur *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) (Ngamo et Hance, 2007).

| Phase du développement inhibée. | Ponte | Pénétration larvaire | Emergence/ adulte |
|---------------------------------|-----------|----------------------|-------------------|
| Monoterpènes actifs | Linalol | Linalol | Carvacrol |
| | Thymol | Thymol | Linalol |
| | Carvacrol | Eugénol | Eugénol |
| | | Anéthole | Thymol |
| | | | Terpinéol |

Les huiles essentielles ont aussi un effet sur l'octopamine, un neurotransmetteur spécifique au système nerveux des invertébrés qui a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme (Chiasson et Beloin, 2007).

- **Effet physique**

Selon Chiasson et Beloin (2007), les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes. Le rôle de cette cuticule est de prévenir les pertes hydriques, elle est sécrétée par l'épiderme et comporte plusieurs couches dont la couche externe, composée de cires donnant les propriétés hydrofuges à la cuticule (Pibiri, 2005). Ainsi la nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et cause des pertes en eau, et peut aussi provoquer l'asphyxie, car les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduit de cette couche cireuse (Ngamo et Hance, 2007).

L'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs (Desmares et *al.*, 2008). Évalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable (Couderc., 2001). Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique (Huete, 2012). De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son «*tutum*», c'est-à-dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (Pibiri, 2005).

6.3.3. Caractères physico-chimiques

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes, elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée, elles sont liposolubles dans les solvants organiques usuels, entraînables à la vapeur d'eau (Desmares et *al.*, 2008). Elles sont peu miscibles à l'eau, voir non miscibles, elles sont composées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atome de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) (Couderc, 2001). Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants variés en concentration variable dans des limites définies (Desmares et *al.*, 2008).

6.3.4. Composition chimique

Selon Bachelot et *al.* (2006), la composition biochimique des huiles essentielles est souvent complexe qui leur confère toutes leurs propriétés, elles peuvent être composée d'une centaine de molécules. Les huiles essentielles pures et naturelles sont les seules à posséder la bonne concentration de composés chimiques, et donc les propriétés adéquates.

De même, la composition des huiles essentielles d'une même espèce varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques, la période de récolte...Par conséquent, leurs propriétés varient également. Il est donc important de sélectionner une huile essentielle standardisée dont les composants actifs sont clairement identifiés et quantifiés (Caillet, 2008).

D'après Couderc (2001) et Desmares et ses collaborateurs (2008), les constituants des huiles essentielles appartenant de façon quasi-exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpenoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquent d'autre part. Le poids moléculaire des composés est assez faible, généralement compris entre 150 et 200.

- **Les terpénoïdes:** Selon Couderc (2001), dans le cas des huiles essentielles, les terpénoïdes les plus volatiles (masse moléculaire la moins élevée: monoterpènes et sesquiterpènes) sont les plus concernés. Porteurs de fonctions dont le degré d'oxydation est variable, ils donnent naissance à des milliers de substances différentes:

1. **Monoterpènes:** Les carbures sont presque toujours présents. Ils sont cycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle.

2. **Sesquiterpènes:** L'allongement de la chaîne accroît le nombre de cyclisations possibles. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents a été décrit.

- **Composé aromatiques:** Dérivés du phénylpropane (C₆-C₃), ils sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones (Desmares et *al.*, 2008).
- **Composés d'origines diverses:** Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatiques, de faible masse moléculaire, sont entraînés de l'hydrodistillation (carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters...) (Desmares et *al.*, 2008).

6.3.5. Action des huiles essentielles

Les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovocide, larvicide et adulticide à l'égard de différents ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés polyphénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (Regnault- Roger et *al.*, 2002).

Différents travaux font référence à l'utilisation d'huiles essentielles pour la protection des denrées stockées contre les insectes ravageurs. Le limonène agit contre différents ravageurs (Ibrahim et *al.*, 2001).

Notre expérimentation s'est déroulée durant la période allant du mois de Mars jusqu'au mois de Juin 2017 au niveau de Laboratoire d'Ecologie des Invertébrés Terrestres à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

1. Matériel utilisé

1.1. Matériel de laboratoire

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé le matériel existant au sein du laboratoire ; à savoir tous les moyens que nous citons ci-dessous (Figure 8):

- Une étuve équipée d'un thermomètre et d'un humidificateur, réglée en vue d'avoir les conditions les plus propices pour assurer un développement rapide de la bruche du haricot à savoir une température de $30 \pm 1^\circ \text{C}$ et une humidité relative de $70 \pm 5 \%$.
- Les bocaux en verre et en plastique de 10 cm de diamètre et de 20cm de hauteur pour l'élevage de masse des bruches.
- Une balance de précision afin de peser les graines.
- Des boîtes de Pétri en verre dans le but d'effectuer les différents essais (Test par contact et Test de répulsion).
- Une loupe binoculaire en vue de faire les observations de différents stades de développement et le comptage des œufs d'*A. obtectus*
- Une micropipette pour le dosage des huiles.

D'autres accessoires utilisés sont le papier filtre, l'acétone, les ciseaux, le scotch, des flacons etc.



Etuve réfrigérée



Balance à affichage électronique



Loupe binoculaire



Pipette graduée



Micropipette



Boîte de pétri



Bocal en verre

Figure 8. Matériel utilisé au laboratoire (Originale, 2017)

1.2. Matériel biologique

1.2.1. Les bruches

L'espèce étudiée est *A. obtectus*, obtenue à partir d'un élevage de masse réalisé au laboratoire en conditions contrôlées.

1.2.2. Les graines de haricot

Les graines de haricot, du cultivar Rognon blanc, sont utilisées pour l'élevage de masse et les tests expérimentaux; elles proviennent du marché local de la région. Elles sont lavées et séchées avant utilisation.

1.2.3. Huile essentielle

Nous avons utilisé l'huile essentielle extraite du fruit de bigaradier (orange amère) dans les différents traitements contre la bruche du haricot.

a. Description de la bigarade

Le Bigaradier *Citrus aurantium* ou Narenj en Arabe est un arbrisseau épineux très décoratif de 4 à 5 m de haut, qui produit l'orange amère. Il est largement implanté en région méditerranéenne. Son tronc est très ramifié et ses feuilles sont d'un vert brillant. Ses fleurs blanches à l'intérieur et pourpres en dehors, sont très odorantes, son fruit, plus petit que celui d'un oranger doux, est ovoïde et jaune foncé. Les fruits sont souvent des baies cloisonnées à pulpe vésiculeuse et juteuse formée de poils intra capillaires (Hadrich et *al.*, 2008). Le bigaradier est originaire du sud est de l'Asie, les arabes l'auraient introduit au IXe ou Xe siècle en Perse, en Irak, en Syrie, en Palestine, en Egypte, en Afrique du Nord, puis en Sicile, en Sardaigne et en Espagne (Didier, 1984).

b. Systématique

Selon Linné (1753), le Bigaradier occupe la position systématique suivante:

| | |
|----------|----------------------------|
| Règne | Plantae |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Sapindales |
| Famille | Rutaceae |
| Genre | <i>Citrus</i> |
| Espèce | <i>Citrus aurantium</i> L. |

c. Caractéristiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Citrus aurantium* (Figure9) provient du marché local (Algérie). C'est une huile liquide mobile et limpide, de couleur jaune pâle à jaune ambré, elle a une odeur typique du fruit. Elle est obtenue par Expression à froid des zestes des fruits frais (Fiche technique, 2016).



Figure 9 . L'huile essentielle d'orange amère (Originale, 2017).

d. Composition chimique de l'huile essentielle

Les principaux composés chimiques de l'huile essentielle de l'orange amère sont obtenus par chromatographie en phase gazeuse (Fiche technique, 2016); illustrés dans le tableau 4.

Cette huile essentielle est composée de 15 principales substances volatiles où le composé largement majoritaire est le Limonène (89%) suivi du Myrcene (2.79%).

Tableau 4. Principaux composés chimiques(%) de l'huile essentielle extraite de l'orange amère obtenus par chromatographie en phase gazeuse (Fiche Technique, 2016).

| Constituants principaux | % |
|--------------------------|-------------|
| Pinene alpha | 0.75 |
| Pinene bêta | 0.62 |
| Sabinene | 0.28 |
| Myrcene | 2.79 |
| Limonène | 89.0 |
| Ocimene trans | 0.27 |
| Linalol | 0.32 |
| Decanal | 0.22 |
| Linalyl propionate | 0.97 |
| Geranyl acetate | 0.27 |
| Caryophyllene beta trans | 0.18 |
| Germacrene D | 0.21 |
| Nerolidol trans | 0.20 |
| Nootkatone | 0.33 |
| Osthol | 0.26 |

2. Méthodes

2.1. Elevage de masse

L'élevage de masse de la bruche du haricot consiste à mettre en contact les bruches d'âges indéterminés avec des graines saines de haricot dans des bocaux en verre ou en plastique. Les bocaux sont gardés à l'obscurité, à une température de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité de $70 \pm 5\%$ dans une étuve réfrigérée. Le but de cet élevage étant de produire un nombre important et suffisant d'individus âgés entre 0 et 24H nécessaires aux différents tests expérimentaux.

2.2. Tests biologiques

2.2.1. Traitement par contact

Le test consiste à mettre dans des boîtes de Pétri en verre des masses de 25 g de haricot puis de traiter avec l'huile essentielle d'orange amère à des doses différentes (1, 2, 3, 4, 5, et $6\mu\text{l}$). Le prélèvement de l'huile essentielle est fait à l'aide d'une micropipette. Ces doses sont dispersées de manière homogène dans les graines. Un lot de 5 couples d'*A. obtectus* âgés de moins de 24 heures est introduit dans chaque boîte tandis que des lots témoins ($0\mu\text{l}$) sont réalisés avec des graines non traitées (Figure 10). Quatre répétitions sont effectuées pour

chaque dose d'huile essentielle, et pour le lot témoin. L'ensemble de boîtes est maintenu à une température de $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $70 \pm 5\%$.

2.2.2. Les paramètres évalués

Pour déterminer l'efficacité et l'action des différentes doses de l'huile essentielle *Citrus aurantium*, plusieurs paramètres biologiques d'*A.obtectus* et deux paramètres agronomiques de *P. vulgaris* sont évalués.

2.2.2.1. Les paramètres biologiques

a. La Mortalité des adultes

Après le lancement des tests, un dénombrement quotidien des adultes d'*A. obtectus* morts est effectué pour tous les traitements jusqu'à la mort de la totalité des individus.

b. La Fécondité des femelles

La fécondité est évaluée par le dénombrement des œufs pondus, éclos et non éclos, à l'aide d'une loupe binoculaire à partir des premières pontes jusqu'à la mort de la totalité des femelles.

c. Le taux d'éclosion

Le taux d'éclosion est la proportion exprimée en pourcentage entre le nombre d'œufs éclos et le nombre d'œufs pondus, elle est calculée après le comptage total des œufs par la formule suivante:

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

d. Le taux d'émergence

L'émergence des individus d'*A.obtectus* débute environ un mois après le traitement des graines du haricot, ces individus sont comptés et retirés quotidiennement de celles-ci jusqu'à la fin de l'émergence des individus de la dernière ponte. La viabilité d'*A.obtectus* est la proportion exprimée en pourcentage entre le nombre d'adultes émergés et le nombre d'œufs pondus, elle est calculée par la formule suivante:

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

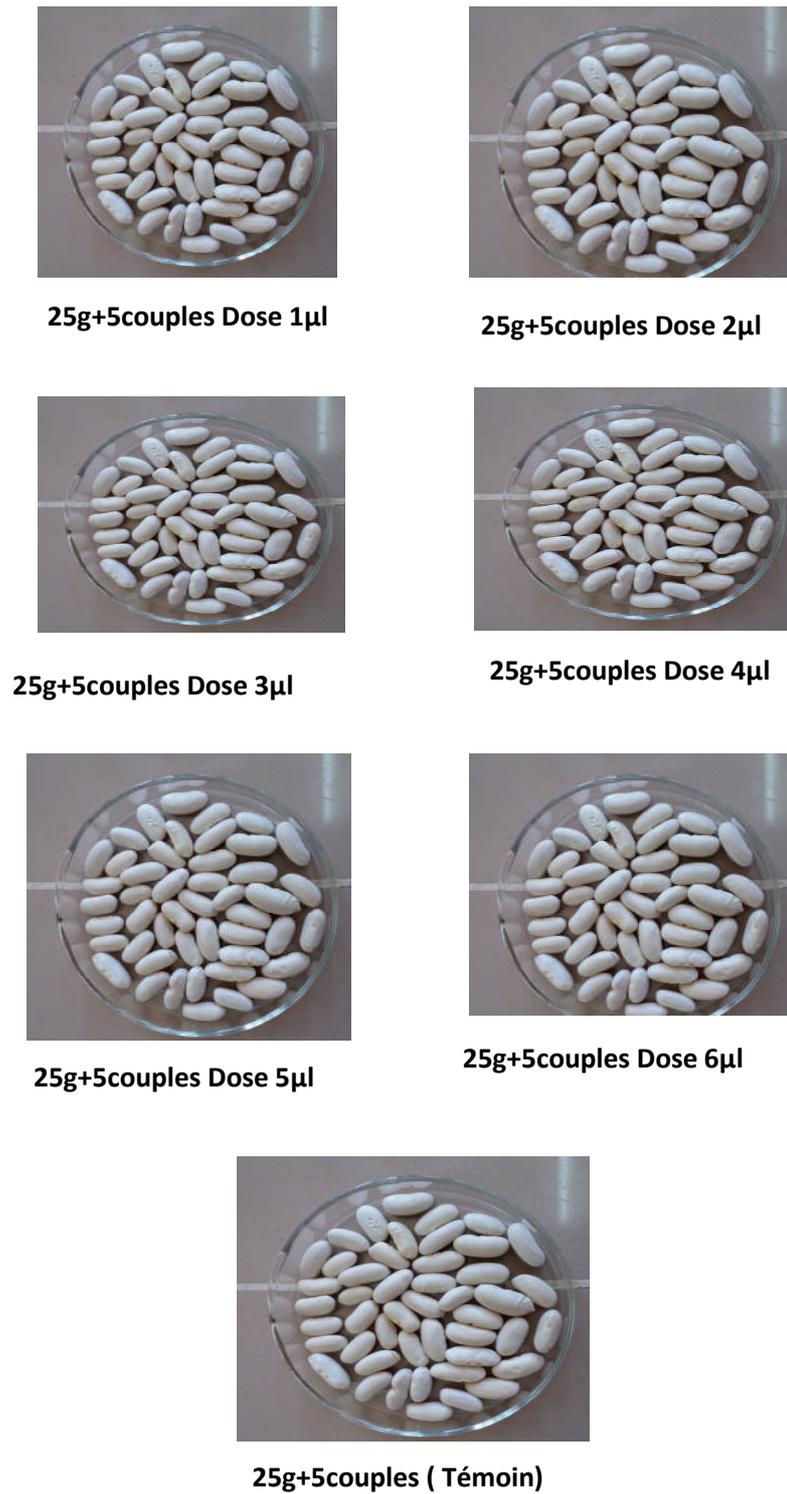


Figure 10. Test par contact pour les différentes doses d'huile essentielle d'orange amère testée contre *A. obtectus* et son témoin (Originale, 2017).

2.2.2.2 Paramètres agronomique

a. La perte en poids des graines

L'évaluation de la perte en poids des graines de *P. vulagaris*, consiste à peser après la dernière émergence des individus d'*A.obtectus* le poids des graines traitées et celles des lots témoins au moyen d'une balance électronique, elle est calculée par la formule suivante :

$$\text{Perte en poids (\%)} = [(\text{Poids initial} - \text{Poids final}) / \text{Poids initial}] \times 100$$

b. La faculté germinative des graines

Les différents lots de graines traitées par contact; sont soumises au test de germination qui consiste à prendre 25 graines au hasard de chaque échantillon traité et du témoin puis les placer sur du coton imbibé d'eau, tapissant les boites de Pétri. Les boites sont maintenues en conditions de laboratoire, elles sont humidifiées au besoin. Au bout de 4 à 5 jours, les graines germées sont dénombrées pour chaque échantillon (Figure 11) . Le taux de germination est calculé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de germination} = (\text{nombre de gaines germées} / \text{total des graines}(25)) \times 100$$

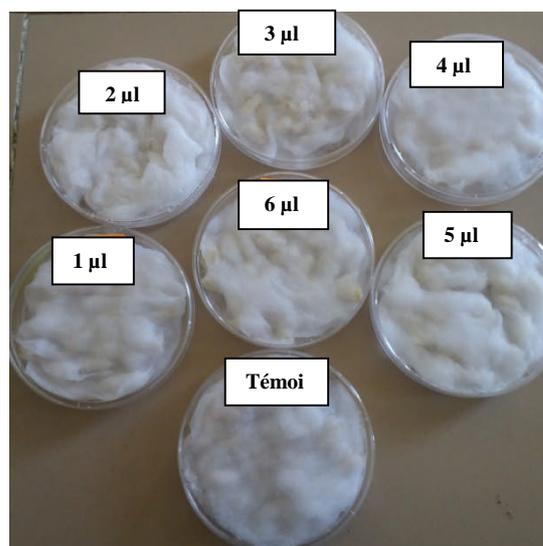


Figure 11. Test de germination des graines du haricot traitées par contact par différentes doses d'huile essentielle de l'orange amère à l'égard d'*A. obtectus* (Originale, 2017).

2.2.3. Test par répulsion

Des disques de papier filtre sont divisés en deux parties égales dans des boîtes de Pétri, six doses d'huile essentielle d'orange amère (1µl, 2µl, 3µl, 4µl, 5µl, 6µl) sont préparées par dilution dans 0,5ml d'acétone. Une moitié du papier est traitée avec l'huile additionnée d'acétone et l'autre moitié est traitée avec de l'acétone uniquement.

Après évaporation du solvant, le disque a été reconstitué au moyen d'une bande adhésive puis placé dans une boîte de Pétri au centre de laquelle sont déposés 5 couples d'*A. obtectus* (Figure 12).

Quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose d'huile essentielle de *Citrus aurantium*.

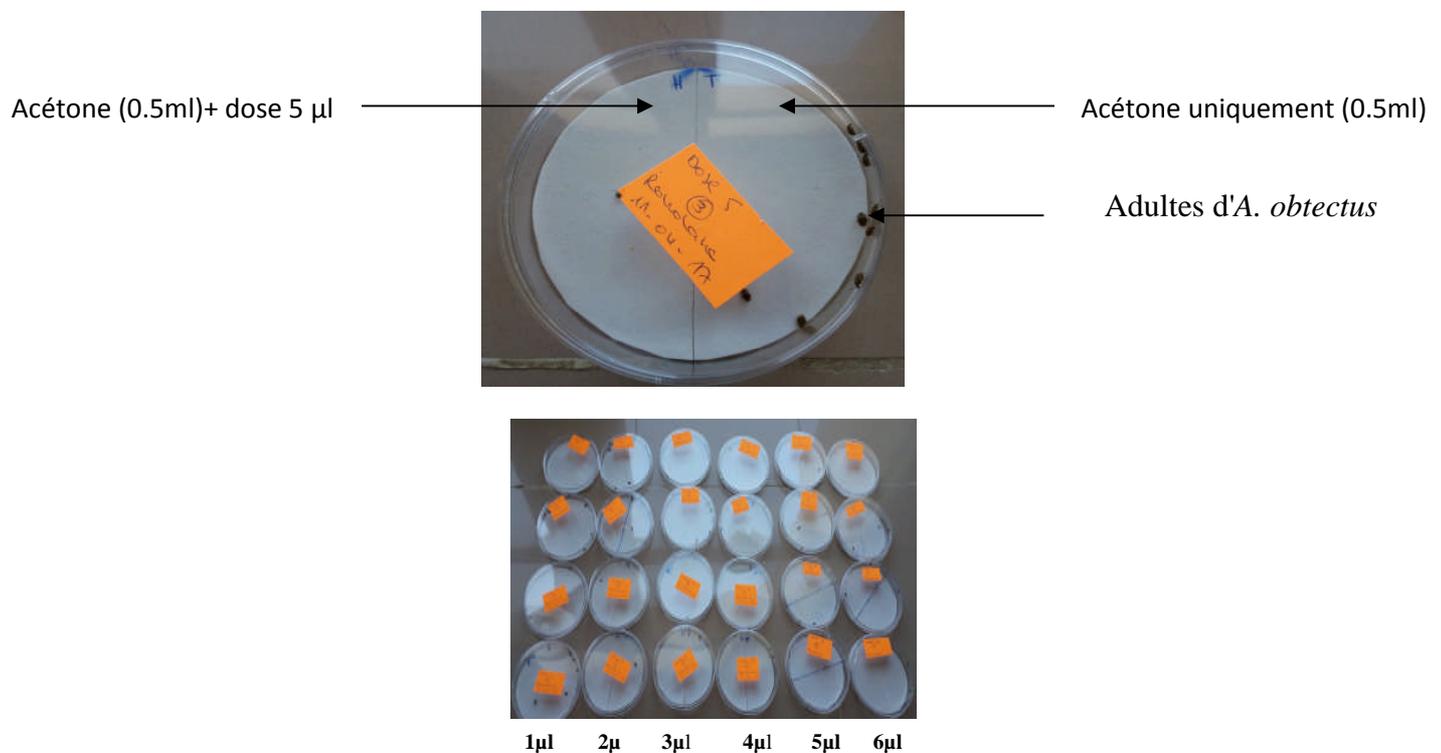


Figure 12. Dispositif expérimental du test de répulsion pour les différentes doses d'huile essentielle et leurs témoins (Originale, 2017).

Après une demi-heure d'expérimentation, les individus sont dénombrés sur chaque partie du disque. Le pourcentage de répulsion est calculé par la formule suivante :

$$PR (\%) = \frac{(Nac - Nsh)}{(Nac + Nsh)} \times 100$$

Nac: Nombre d'individus présents sur la partie traitée uniquement avec l'acétone.

Nsh : Nombre d'individus présents sur la partie traitée avec la solution huileuse.

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque dose de l'huile essentielle testée est calculé et attribué à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V (Mc Donald et *al.* 1970) (Tableau 5).

Tableau 5. Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et *al* (1970).

| Classes | Intervalle de répulsion | Propriétés |
|------------|-------------------------|---------------------------|
| Classe 0 | $PR \leq 0.1$ | N'est pas répulsive |
| Classe I | $0.1 < PR \leq 20$ | Très faiblement répulsive |
| Classe II | $20 < PR \leq 40$ | Faiblement répulsive |
| Classe III | $40 < PR \leq 60$ | Modérément répulsive |
| Classe IV | $60 < PR \leq 80$ | Répulsive |
| Classe V | $80 < PR \leq 100$ | Très répulsive |

2.2.4. Test d'inhalation

Le test par inhalation consiste à étudier l'effet de l'huile essentielle de bigaradier sur la mortalité des adultes d'*A.obtectus*. Il est réalisé selon le protocole suivant :

Dans des bocaux de 125ml de volume, des petits disques du papier filtre sont suspendus à l'aide d'un fil fixé à la face interne du couvercle. Des doses de 1 μ l, 2 μ l, 3 μ l, 4 μ l, 5 μ l et 6 μ l d'huile essentielle de *C. aurantium* sont introduites dans le disque au moyen d'une micropipette. Cinq couples de bruches adultes âgés de moins de 24 heures sont déposés dans les bocaux dont la fermeture est parfaitement étanche. Quatre répétitions sont effectuées pour chaque traitement et parallèlement un échantillon témoin non traité par l'huile essentielle est réalisé. Un lot témoin non traité par l'huile essentielle est réalisé.

Le dénombrement des individus morts est effectué pour chaque dose après 24 heures, 48 heures, 72 heures et 96 heures du lancement de chaque test (figure13).

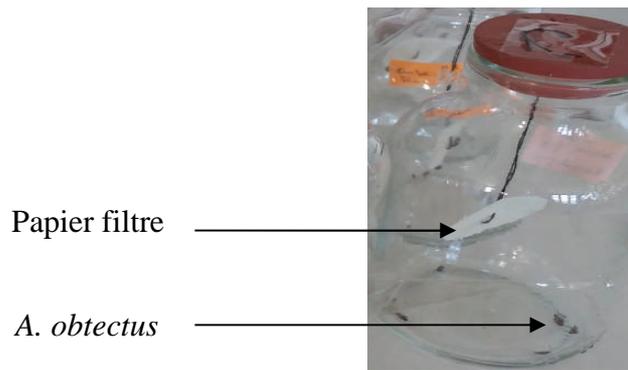


Figure 13. Test d'inhalation de l'huile essentielle d'orange par différentes doses à l'égard des adultes d'*A. obtectus* (Originale, 2017).

3. L'analyse statistique

Les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance à un ou deux critères de classification en utilisant le logiciel, STAT BOX, version 6.3 pour déterminer l'action de l'huile essentielle vis-à-vis de la bruche du haricot et d'analyser les différents paramètres étudiés. Lorsque cette analyse montre des différences significatives, elle est complétée par le test de Newman et Keuls (Dagnelie, 1975).

Si $P > 0.05$, il n'y a pas de différence significative.

Si $0.01 < P \leq 0.05$, il y a une différence significative.

Si $0.001 < P \leq 0.01$, il y a une différence hautement significative.

Si $P \leq 0.001$, il y a une différence très hautement significative

1. Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle par contact

L'activité insecticide de l'huile essentielle de bigaradier est évaluée par contact contre les adultes d'*A. obtectus* à travers quelques paramètres biologiques de la bruche et deux paramètres agronomiques de la graine.

1.1. Action sur la mortalité des adultes

Les résultats obtenus montrent que le taux de mortalité des adultes de la bruche du haricot évolue proportionnellement avec la durée d'exposition et les doses de l'huile essentielle de bigaradier appliquées par contact soient 0, 1, 2, 3, 4,5 et 6 μ l (Figure 14).

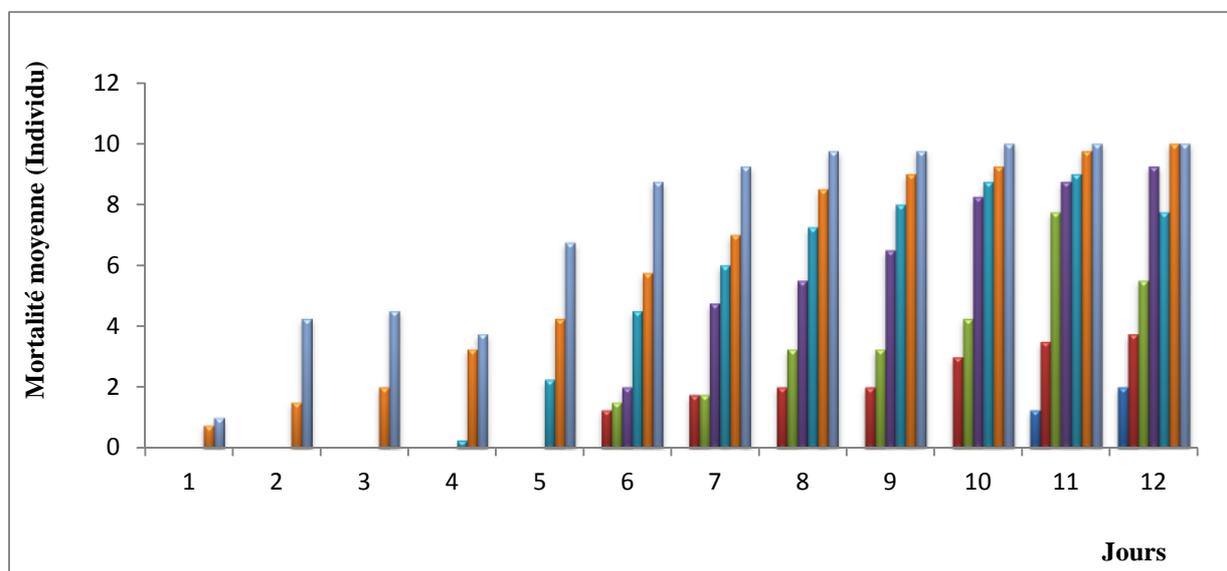


Figure 14. Mortalité moyenne des adultes d'*A. obtectus* après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose et du temps d'exposition.

La mortalité moyenne des insectes dans les lots témoins est nulle les 10 premiers jours d'exposition ; au 11^{ème} jour elle enregistre la valeur moyenne de 1.25 morts. Dès la plus faible dose 1 μ l, l'huile essentielle montre un effet toxique qui s'exprime avec une mortalité moyenne de 1.25 morts après 6 jours d'exposition uniquement. La mortalité subit une légère augmentation à la dose 2 μ l, elle est en moyenne de 1.5 morts et une mortalité moyenne de 2 pour la dose 3 μ l, et cela au bout d'un même temps d'exposition (6jours). Pour la dose 4 μ l, la mortalité est enregistrée plus tôt (4^{ème} jours) avec une moyenne de 0.25 individus. La mortalité des adultes augmente ensuite au fur et à mesure que la dose augmente pour atteindre une mortalité totale de 10 individus au bout de 12 jours d'exposition à la dose 5 μ l. A la plus

forte dose de 6 μ l, la mortalité totale est enregistrée au bout du 10^{ème} jour d'exposition uniquement.

L'analyse de la variance à deux critères de classification pour le paramètre mortalité, révèle une différence très hautement significative pour les facteurs dose d'e l'huile essentielle d'orange amère (P=0) et pour le facteur temps d'exposition (P=0).

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification de 5%, classe les doses utilisées pour l'huile essentielle testée dans 5 groupes homogènes plaçant la plus forte dose (6 μ l) dans le groupe A (Tableau 6, Annexe1).

Tableau 6. Résultat du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère sur la mortalité des adultes d'*A. obtectus*.

| Dose | Libelles | Moyennes | Groupes homogènes | | | | |
|------|----------|----------|-------------------|---|---|---|---|
| 7.0 | d7 | 7,313 | A | | | | |
| 6.0 | d6 | 5,917 | | B | | | |
| 5.0 | d5 | 4,479 | | | C | | |
| 4.0 | d4 | 3,75 | | | C | | |
| 3.0 | d3 | 2,271 | | | | D | |
| 1.0 | d1 | 0,271 | | | | | E |
| 2.0 | d2 | 0,271 | | | | | E |

Pour le paramètre mortalité, le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe le temps d'exposition à l'huile essentielle d'orange amère dans 5 groupes homogènes (Tableau 7).

Les résultats obtenus dans cette étude montrent nettement que l'huile essentielle de bigaradier testée a révélé un effet toxique très hautement significatif sur les adultes d'*A. obtectus* au fur et à mesure que la dose et le temps d'exposition augmentent.

Nos résultats concordent avec les travaux de plusieurs auteurs qui ont mis en évidence l'action des huiles essentielles sur la longévité des ravageurs des denrées stockées. A cause de leur volatilité importante, les huiles essentielles 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; Konstatopoulou 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).

Tableau 7. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition à l'huile essentielle d'orange amère sur la mortalité des adultes d'*A. obtectus*.

| Temps | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | | | | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|---|---|---|
| 11.0 | t11 | 6,821 | A | | | | |
| 12.0 | t12 | 6,643 | A | | | | |
| 10.0 | t10 | 5,786 | A | B | | | |
| 9.0 | t9 | 5,214 | A | B | C | | |
| 8.0 | t8 | 4,893 | A | B | C | | |
| 7.0 | t7 | 4,107 | | B | C | | |
| 6.0 | t6 | 3,214 | | | C | D | |
| 5.0 | t5 | 1,893 | | | | D | E |
| 4.0 | t4 | 1,036 | | | | D | E |
| 3.0 | t3 | 0,929 | | | | D | E |
| 2.0 | t2 | 0,821 | | | | D | E |
| 1.0 | t1 | 0,25 | | | | | E |

En effet, Haubruge et *al.* (1989) ont testé la toxicité de cinq huiles essentielles de *Citrus* à l'égard de trois coléoptères. Les résultats du test par contact des grains traités ont indiqué que l'huile extraite du bigaradier est la plus efficace simultanément à l'égard de le charançon du maïs; *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), Grand capucin; *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrychidae) et Tribolium roux; *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Ces auteurs ont constaté aussi que le charançon du maïs (*S.itophilus zaemais*) est la plus sensible envers ces huiles essentielles vu qu'ils ont noté pour cet insecte une mortalité de 96% à la dose de 5µL de l'huile du bigaradier après 7 jours. Pour le test par application topique, les travaux de ces auteurs ont montré que la longévité de *P. truncatus* est d'une journée à la dose de 2µl de l'huile du bigaradier. Par ailleurs, des mortalités de 28%, 98%, 34% et 24% des adultes de *Sitophilus zeamais* ont été enregistrées à la dose 2µl après 24 heures, respectivement pour les huiles essentielles de l'orange douce, du bigaradier, du citron et du pamplemousse. Ces résultats montrent que le test par contact nécessite un temps d'exposition plus important car l'insecte n'est pas en contact direct avec l'huile essentielle testée contrairement à l'huile essentielle de bigaradier est appliquée directement sur le corps de l'insecte.

Aoudjit et Afiri (2005) ont révélé dans leurs travaux que l'huile de bergamote est très toxique vis à vis de *Callosobruchus maculatus*, une mortalité totale est enregistrée en moins de 24 heures, quelle que soit la dose utilisée.

Les travaux de Kellouche (2005) ont rapporté que les poudres végétales de figuier, d'eucalyptus, d'olivier et de citronnier réduisent significativement la longévité des adultes de *Callisobruchus maculatus* à des fortes doses.

Belkhalifa et Bousba (2008) ont montré que les huiles de l'orange douce, de mandarinier et de citronnier provoquent une mortalité totale sur *C. maculatus*, à la dose de 160 μ l, 40 μ l et 15 μ l au bout de 7.96; 17,18 et 15.98 heures d'exposition.

Ihidoussen et Ouendi (2009) ont signalé une réduction très hautement significative de la longévité des adultes d'*A. obtectus* avec les huiles essentielles de citron (*Citrus limonum*) et de mandarine (*Citrus reticulata*) ou la longévité de ces individus n'atteint pas 24 heures à la dose 10 μ l pour l'huile de citron et 8 μ l pour l'huile de mandarine.

D'autre part, Hamoudi et Temmer (2009) ont signalé que l'huile de l'orange douce et l'huile de la carotte agissent d'une façon très hautement significative sur la longévité des adultes de *C. maculatus* inférieure à 24H, aux doses de 25 et 100 μ l.

Hamdani (2012) pour sa part a étudié l'efficacité de quatre huiles essentielles du citronnier, oranger, pamplemoussier. Il a constaté que la longévité des adultes d'*A. obtectus* est inversement proportionnelle à la dose des huiles testées. Une légère diminution est enregistrée dès la plus faible dose utilisée (2 μ l). Elle est de 8; 9 et 8,75 jours, valeurs correspondant respectivement aux huiles essentielles de citron, orange et pamplemousse.

Le même auteur a montré que la longévité des adultes d'*A. obtectus* diminue parallèlement avec l'augmentation des doses de poudres de 4 espèces de *Citrus* et que la poudre des feuilles de bigaradier est la plus efficace ou des longévités moyennes de moins de 2 jours dès la dose de 8 μ l sont enregistrées.

Goucem-Khelfane (2014) montre que la longévité des adultes de la bruche du haricot varie en fonction de l'huile essentielle appliquée par contact. Parmi les huiles essentielles 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 $0,19 \pm 0,011$; 10 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 $2 \pm 0,18$; $5,75 \pm 0,5$ et $2,07 \pm 0,35$ jours. La même étude a montré l'effet des huiles essentielles d'agrumes dont celle du bergamotier; Cette dernière semble plus efficace comparée au citronnier; à la dose 6 μ l l'huile essentielle du bergamotier réduit déjà la longévité au bout de 24h.

Le même auteur a montré que 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.

L'activité insecticide des monoterpènes (89% limonène), contenus dans l'huile essentielle de bigaradier peut être due à plusieurs mécanismes qui affectent des cibles multiples en perturbant, plus efficacement, l'activité cellulaires et le comportement des insectes.

1.2. Action sur 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 doses de l'huile essentielle d'orange amère utilisées. La fécondité moyenne dans les lots témoins est de 167 œufs /5femelles. Elle diminue nettement en présence de l'huile essentielle d'orange amère testée et de façon progressive avec l'augmentation des doses (Figure 15). En effet, aux doses 1 μ l, 2 μ l, 3 μ l, la fécondité diminue lentement pour atteindre respectivement les moyennes suivantes: 153, 118 et 114 œufs par 5 femelles d'*A. obtectus*. Aux doses de l'huile essentielle d'orange amère (4 μ l, 5 μ l et 6 μ l), la fécondité baisse fortement; elle est respectivement de 99, 56 et 43 œufs/ 5 femelles.

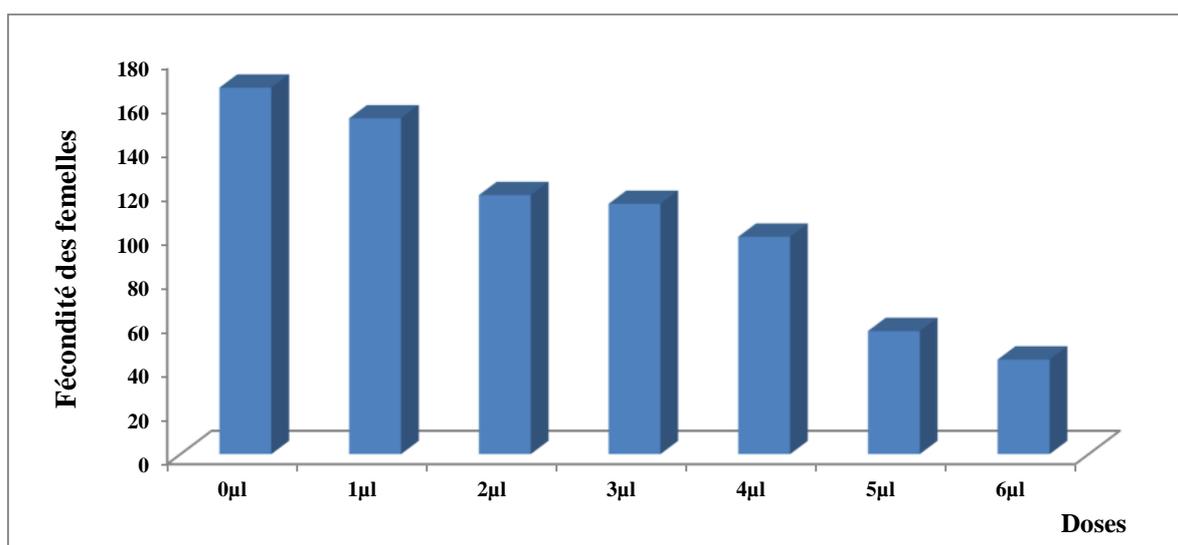


Figure 15. Fécondité moyenne des femelles d'*A. obtectus* après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle une différence très hautement significative pour le facteur dose de l'huile essentielle d'orange amère ($P=0$) concernant le paramètre fécondité (Tableau 8, Annexe 2). Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe ainsi les doses utilisées dans 4 groupes homogènes.

Tableau 8. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère, sur la fécondité des adultes d'*A. obtectus*.

| Doses | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | | | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|---|---|
| 1.0 | d0 | 167 | A | | | |
| 2.0 | d1 | 153 | A | B | | |
| 3.0 | d2 | 118 | | B | C | |
| 4.0 | d3 | 114 | | B | C | |
| 5.0 | d4 | 99 | | | C | |
| 6.0 | d5 | 56 | | | | D |
| 7.0 | d6 | 43 | | | | D |

Souvent, 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 (Goucem-Khelfane, 2014).

De nombreux auteurs ont étudiés l'effet bio-insecticide des huiles essentielles sur la fécondité des femelles de la bruche du haricot ou des espèces voisines.

La réduction de la fécondité d'*A. obtectus* par les huiles essentielles de 24 plantes aromatiques est étudiée par ailleurs, Bouchikhi Tani et *al.* (2008) ont constaté chez les femelles d'*A. obtectus* que la ponte est inhibée complètement dans les graines traitées par les huiles extraites de *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba-alba* à une dose supérieure ou égale 5 μ l/30g.

Bouchikhi Tani (2011) a montré que les huiles les plus toxiques sur les adultes d'*A. obtectus* (*Mentha pulegium*, *Artemisia herba-alba*, *Origanum glandulosum* et *Rosmarinus 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.

Les travaux de Hamdani (2012) ont montré que les huiles essentielles extraites du citron, de l'orange, de pamplemousse réduisent le nombre moyen d'œufs pondus à moins de 20 œufs/5 femelles à partir de la dose de 8 μ l, alors que l'huile extraite du bigaradier réduit la fécondité à moins de 12 œufs/5femelles dès la dose de 4 μ l. Les poudres des feuilles de quatre espèces de genre *Citrus* entraînent une diminution de la fécondité des femelles d'*A. obtectus* au fur et à mesure que la dose des poudres utilisées augmente et que la poudre extraite du

bigaradier a le plus grand effet ou un taux moyen d'œufs pondus de moins de 40 œufs/ 5 femelles dès la dose de 2% est enregistré.

Goucem-Khelfane (2014) a montré qu'à la plus forte dose (8 μ l) les huiles essentielles d'eucalyptus et de mandarinier annulent complètement la ponte des femelles (0 \pm 0 œufs/5femelles) et celle de citronnier et de laurier noble affectent notablement la fécondité qui est réduite à 1,25 \pm 2,5 et 1,6 \pm 1,91 œufs /5femelles respectivement.

L'huile essentielle de Rutacées est constitué essentiellement de limonène (98%). Ce composé présente une capacité à réduire la fécondité des adultes d'*A. obtectus* qui elle-même dépend de l'effet toxique de cette huile essentielle testée. De plus, les vapeurs de cette huile pouvant 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).

L'huile essentielle du Bigaradier utilisée durant notre expérimentation semble moins efficace car elle ne réduit la fécondité qu'à moins de 68 œufs/5 femelles à la même dose. Cette différence d'action serait liée à la composition chimique, qui dépend de la source, la saison, les conditions écologiques, la méthode d'extraction, le temps d'extraction et la partie de la plante utilisée. En effet, les huiles essentielles sont des mélanges de composés chimiques de nature et de fonction différentes.

1.3. Action sur l'éclosion des œufs

La fertilité est le pourcentage d'œufs éclos par rapport aux œufs pondus par la femelle. Elle est évaluée après traitement à l'huile essentielle de bigaradier par contact. D'après les résultats présentés dans la figure 16, nous constatons que la fertilité maximale est enregistrée dans les lots témoin, sans présence de l'huile essentielle d'orange amère qui atteint le 100%. En présence de l'huile essentielle testée et aux différentes doses étudiées (1 μ l; 2 μ l; 3 μ l; 4 μ l; 5 μ l et 6 μ l), ce taux diminue lentement pour atteindre respectivement les taux suivants: 88.98%, 84.73%, 79.73%, 76.74%, 74.56% et 70.7 %.

L'analyse de la variance à un critère de classification ne révèle aucune différence significative pour le facteur dose d'huile essentielle de bigaradier (P=0.44146) concernant le paramètre éclosion des œufs (Annexe 3).

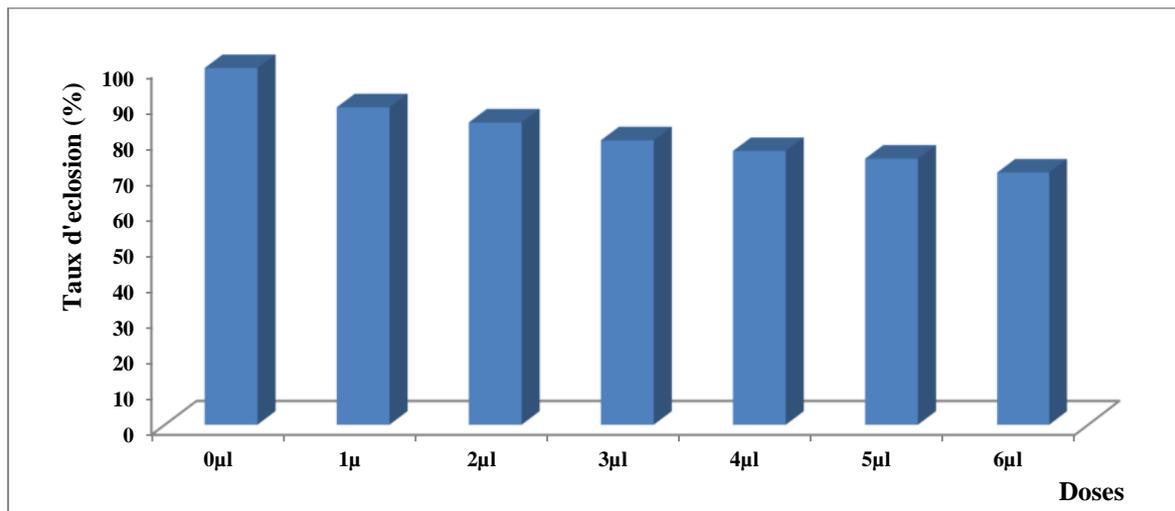


Figure 16. Taux moyen d'éclosion (%) des œufs d'*A. obtectus* après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose et du temps d'exposition.

L'action des huiles essentielles varie en fonction des stades de développement de la bruche du haricot.

Selon Credland (1992), il s'agit d'une asphyxie par l'obstruction du tunnel de l'œuf qui est la voie des échanges gazeux avec le milieu extérieur, c'est ainsi que l'huile essentielle et ses constituants ont un effet toxique, étant donné qu'ils peuvent pénétrer à travers le chorion de l'œuf. En outre Don Pedro (1989), a constaté qu'il ya une accumulation du métabolite toxique et une insuffisance de l'activité respiratoire chez l'embryon.

Les travaux de Kellouche et Soltani (2004) ont montré que les poudres des plantes *Eucalyptus globulus*, *Citrus limon*, *Olea europaeae* et plus particulièrement *Syzygium aromaticum* affectent l'éclosion des œufs de *C. maculatus* soit en diminuant l'adhésivité des œufs sur le tégument des graines, soit en agissant sur l'embryon après leurs pénétration à travers le chorion.

Hammoudi et Temmar (2009) ont signalé que l'huile de l'orange douce et de la carotte agissent d'une façon très hautement significative sur le taux d'éclosion des œufs de *C. maculatus*. Aux faibles doses 5µl, le taux d'éclosion est de 76.78% pour l'orange douce et de 62.5% pour la carotte. Alors qu'elle s'annulent respectivement aux doses 20µl et de 25µl.

Hamdani (2012) a constaté que les quatre huiles d'oranger, citronnier, pamplemoussier affectent l'éclosion des œufs d'*A. obtectus*, notamment avec l'huile essentielle de bigaradier qui réduit à moins de 5 œuf éclos/ 5 femelles (2.99%) à partir de la dose de 4µl.

Le même auteur à ajouté que l'éclosion des œufs subit des diminutions plus légère avec l'utilisation des poudres des feuilles du citronnier, de l'orange et du pamplemoussier alors

qu'elle subit des diminutions marquées avec la poudre du bigaradier qui a permis d'enregistrer une moyenne d'éclosion inférieure à 25 œufs éclos/5femelles à la dose de 2g.

Goucem-Khelfane (2014) a montré que l'huile essentielle de laurier noble réduit nettement le taux d'éclosion des œufs d'*A. obtectus* ($3,12 \pm 6,25\%$) dès la dose $6\mu\text{l}$ et les huiles de *Citrus limonum*, *Citrus reticulata* et de l'*Eucalyptus globulus* annulent complètement le taux de fertilité à la dose $8\mu\text{l}$.

1.4. Action sur l'émergence des adultes

Les résultats présentés dans la figure 18, montrent que le traitement par l'huile essentielle de l'orange amère présente un effet sur le taux de viabilité des adultes d'*A. obtectus* et qu'il diminue proportionnellement avec l'augmentation de la dose de l'huile utilisée. Il réduit nettement le nombre de descendants comparativement à la série témoin, où le taux moyen est de 10.17%. Une diminution progressive allant respectivement de 7.2%; 7.18; 6.57%; 5.81; 4.54; 2.67 d'individus émergés est enregistrée aux doses respectives de $1\mu\text{l}$, $2\mu\text{l}$, $3\mu\text{l}$, $4\mu\text{l}$, $5\mu\text{l}$ et $6\mu\text{l}$.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle une différence hautement significative pour le facteur dose d'huile essentielle d'orange amère ($P=0,0036$) concernant le paramètre émergence des adultes d'*A. obtectus* (Tableau 9, Annexe 4).

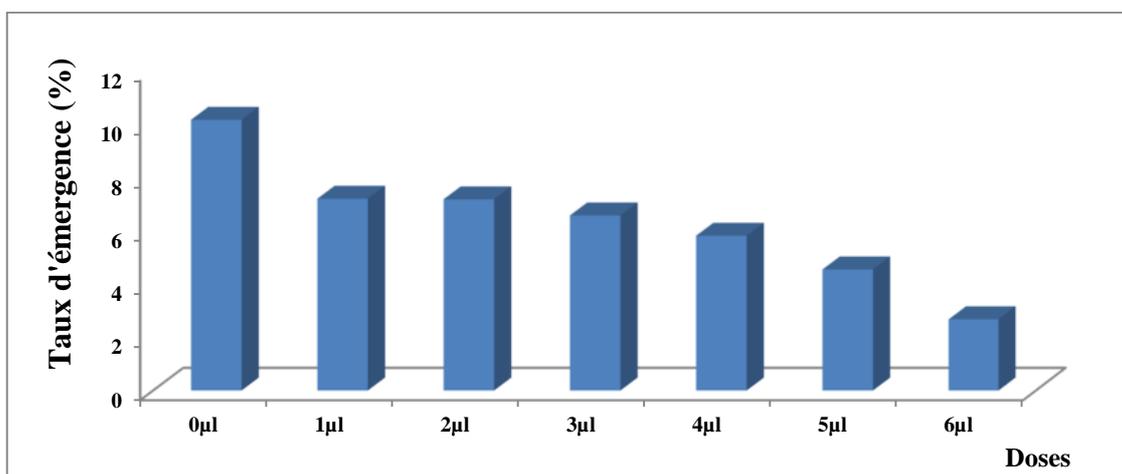


Figure 17. Taux d'émergence(%) des adultes d'*A. obtectus* après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose.

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe les doses d'huile essentielle d'orange amère utilisées pour le paramètre émergence des adultes d'*A. obtectus* dans 2 groupes homogènes.

Tableau 9. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère sur l'émergence des adultes d'*A. obtectus*.

| Doses | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|
| 1.0 | d0 | 10,298 | A | |
| 2.0 | d1 | 7,675 | A | B |
| 3.0 | d2 | 7,198 | A | B |
| 4.0 | d3 | 6,575 | A | B |
| 7.0 | d6 | 5,81 | A | B |
| 5.0 | d4 | 4,545 | A | B |
| 6.0 | d5 | 2,675 | | B |

Nos résultats sont en accord avec les travaux de plusieurs auteurs qui se sont intéressés à l'effet des huiles essentielles sur le taux d'émergence des adultes des ravageurs des denrées stockées.

Tapondjou et *al.* (2003) ont constaté une réduction de moitié du taux d'adultes d'*A. obtectus* émergés à la première génération avec un retard de trois jours par rapport aux témoins testés par des extraits végétaux.

Ihidoussene et Ouendi (2009) ont montré que les traitements effectués avec les huiles essentielles de citronnier et de mandarinier réduisent nettement le nombre de descendants d'*A. obtectus* comparativement à la série témoin, qui est en moyenne de 35 individus ce qui correspond à un taux de 25,13%, et s'annulent complètement à la dose (8 μ l) pour les deux huiles.

Selon Hamdani (2012) les traitements effectués avec l'huile du citron, de l'orange, du pamplemousse et du bigaradier réduisent nettement le taux d'émergence comparativement au témoin dont la viabilité est de 33,15 % ce qui correspond à 43 individus émergés pour l'ensemble des œufs éclos. Aussi, le taux d'émergence et la viabilité des adultes d'*A. obtectus* s'annulent pour les huiles du citron, de l'orange et du pamplemousse aux doses 8 et 10 μ L et s'annulent à partir de la dose 4 μ L pour l'huile du bigaradier.

Le même auteur a montré que la poudre extraite des feuilles de bigaradier présente l'effet le plus marqué sur l'émergence des adultes d'*A. obtectus* ou il a enregistré un nombre moyen d'émergence inférieur à 7 individus dès la dose de 2g.

1.5. Action sur la perte en poids des graines

La figure 18 montre que l'utilisation des différentes doses d'huile essentielle d'orange amère 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 à l'huile essentielle d'orange amère où une moyenne de 8.51% est enregistrée ; ces pertes pondérales se réduisent à 6.55% et 6.18; % pour les doses 1 et 2 μ l respectivement. Aux doses 3 μ l; 4% et 5 μ l, la perte en poids des graines diminue progressivement pour atteindre les moyennes suivantes 3.46%; 2.87 %et 2.78% respectivement. Le taux minimal, de 1.16% s'exprime à la plus forte dose 6 μ l testée.

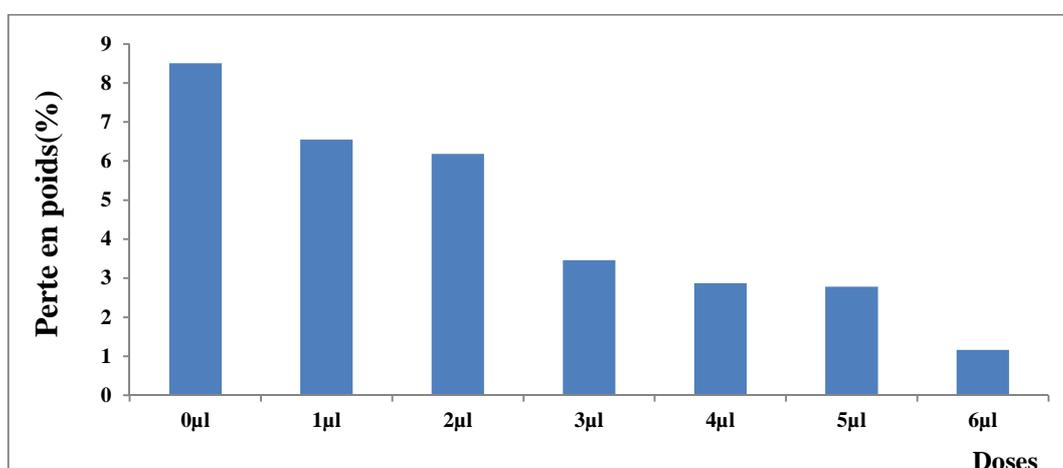


Figure 18. Perte en poids (%) des graines de haricot après traitement d'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle une différence très hautement significative pour le facteur dose d'huile essentielle d'orange amère utilisée ($P=0,00004$) en ce qui concerne la perte en poids des graines de *P. vulgaris* (Tableau 10, Annexe 5).

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe les doses 0 μ l, 1 μ l et 2 μ l d'huile essentielle d'orange amère testées pour le paramètre perte en poids des graines dans le groupe A et les autres doses dans le groupe B.

La majorité des travaux antérieurs ont montré que les traitements par les huiles essentielles contre les Bruchidées réduisent fortement les pertes en poids des grains de légumineuses.

Tableau 10. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile essentielle d'orange amère, sur la perte en poids des graines de haricot.

| Doses | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|
| 1.0 | d0 | 8,51 | A | |
| 2.0 | d1 | 6,55 | A | |
| 3.0 | d2 | 6,18 | A | |
| 4.0 | d3 | 3,46 | | B |
| 5.0 | d4 | 2,87 | | B |
| 6.0 | d5 | 2,78 | | B |
| 7.0 | d6 | 1,16 | | B |

Hamdani (2012) qui a constaté que la perte en poids des graines est proportionnelle au nombre d'individus émergés d'*A. obtectus*. En fait, elle présente la valeur la plus élevée dans les lots témoins (bruches) avec une moyenne de $8,25 \pm 0,64$ g, puis elle subit des diminutions à 3.75g; 5.25g; 5g; 1.75g respectivement pour l'huile de citronnier, de l'oranger, de pamplemoussier et du bigaradier.

Le même auteur a montré que l'utilisation des poudres des feuilles de quatre espèces de genre *Citrus* plus particulièrement le bigaradier à partir de la dose de 6% assure la protection du poids des graines de *P. vulgaris*.

Dans notre cas, la perte en poids moyenne dans les lots témoins est de 8.51g, cette perte pondérale est très visible à travers une réduction du poids et du volume des graines attaqués suite au développement de plusieurs larves à l'intérieure, puis elle subit des diminutions au fur est a mesure que les doses de l'huile essentielle de bigaradier augmentent jusqu'a atteindre une moyenne minimale de 1.16g à la plus forte dose de 6µl.

Il ressort globalement que le traitement par l'huile essentielle testée protège les graines de haricot; ainsi, les pourcentages des pertes pondérales diminuent au fur et à mesure que la dose de l'huile essentielle testée augmente pour presque s'annuler a la plus forte dose de 6µl.

1.6. Action sur la faculté germinative des graines

Les résultats du test de germination des graines de *P. vulgaris* présentés dans la figure 19 montrent que les lots témoins des graines bruchées, enregistrent le taux de germination le plus faible qui est de 14%, l'équivalent en moyenne de 3,5 graines germées pour chaque boîte.

Les graines de *P. vulgaris* traitées à l'huile essentielle d'orange amère aux différentes doses (1µl; 2µl; 3µl; 4µl; 5µl et 6µl) ont un pouvoir germinatif estimé à 37%; 38%; 42%,

45%; 54 % et 75%, respectivement. Ces résultats montrent que plus les doses augmentent, plus la faculté germinative des graines du haricot est préservée.

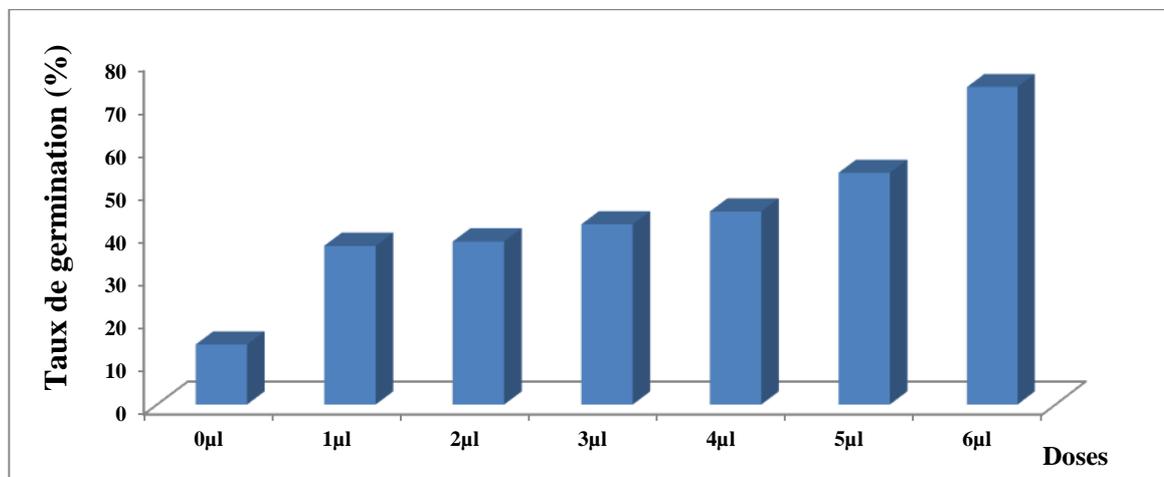


Figure 19. Taux de germination (%) des graines après traitement à l'huile essentielle d'orange amère en fonction de la dose.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle une différence très hautement significative pour le facteur dose d'huile essentielle d'orange amère utilisée ($P=0$) en ce qui concerne la germination des graines du haricot (Tableau 11, Annexe 6). Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe les doses d'huile essentielle d'orange amère testées pour le paramètre germination des graines dans 4 groupes homogènes.

Nos résultats se rapprochent à ceux de Ihidoussene et Ouendi (2009) qui ont montré que le pouvoir germinatif des graines saines est estimé à une valeur moyenne de 86%, par contre dans les lots des graines bruchées, le taux de germination est de 52%.

Hamdani (2012) a montré que le pouvoir germinatif des graines de *P. vulgaris* traitées par quatre espèces de genre *Citrus* et plus particulièrement la poudre des feuilles de bigaradier contre *A. obtectus* donne des résultats positifs à partir de la dose de 6g (95%).

Tableau 11. Résultats du test Newman et Keuls concernant l'effet d'huile essentielle d'orange amère, sur la germination des graines de haricot.

| Doses | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | | | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|---|---|
| 7.0 | d6 | 74 | A | | | |
| 6.0 | d5 | 54 | | B | | |
| 5.0 | d4 | 45 | | B | C | |
| 4.0 | d3 | 42 | | B | C | |
| 3.0 | d2 | 38 | | | C | |
| 2.0 | d1 | 37 | | | C | |
| 1.0 | d0 | 14 | | | | D |

De même Goucem-Khelfane (2014) a signalé que des différences significatives sont enregistrées pour les huiles testées sur des graines du haricot bruchées (*A. obtectus*) 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 μ l ou 8 μ l) sont proches de ceux obtenus sur des graines saines (environ 90%).

2. Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle par répulsion

La figure 20 montre que le taux de répulsion le plus faible est enregistré avec l'huile essentielle d'orange amère à la dose 1 μ l et 2 μ l avec une même moyenne qui est de 40% ; aux doses 3 μ l, 4 μ l et 5 μ l d'huile essentielle d'orange amère, un taux de répulsion identique est noté à une valeur moyenne de 60%, alors que le taux moyen de répulsion le plus élevé est enregistré avec la plus forte dose (6 μ l), il est en moyenne de 80%.

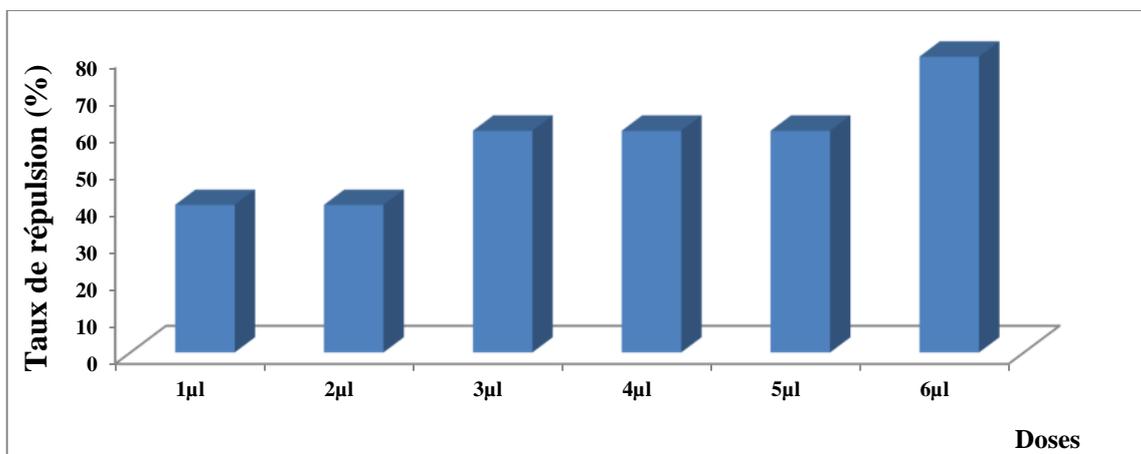


Figure 20. Taux de répulsion (%) des adultes d'*A. obtectus* après traitement à l'huile d'orange amère en fonction de la dose.

L'analyse de la variance à un critère de classification ne révèle aucune différence significative pour le facteur dose de l'huile essentielle d'orange amère testée ($P=0,318$) en ce qui concerne le taux de répulsion (Tableau 12, Annexe 7).

Selon Mc Donald *et al.* (1970), l'huile essentielle d'orange amère est placée dans la classe III; c'est donc une huile essentielle modérément répulsive avec un taux moyen de répulsion de 56,66% (Tableau 12).

Tableau 12. Classement de l'huile essentielle d'orange amère selon ses propriétés répulsives par la méthode de Mc Donald *et al.*(1970).

| Huile | Dose μl | Moyenne d'individus présents dans la | | Pourcentage |
|--------------------------------|----------------------|--------------------------------------|--------------------|-------------|
| | | Partie traitée | Partie non traitée | |
| Bigaradier | 1 μl | 3 | 7 | 40% |
| | 2 μl | 3 | 7 | 40% |
| | 3 μl | 2 | 8 | 60% |
| | 4 μl | 2 | 8 | 60% |
| | 5 μl | 2 | 8 | 60% |
| | 6 μl | 1 | 9 | 80% |
| Taux moyen de répulsion | 56.66% | | | |
| Classe | III | | | |
| Effet | Modérément répulsive | | | |

L'effet répulsif de certaines huiles essentielles a été mis en évidence par de nombreuses études sur la bruche du haricot et d'autres bruches des stocks.

Kellouche *et al.* (2010) a signalé que *Mentha officinalis*, *Mentha piperita*, *Citrus mendurensis* et *Melaleuca vidiflora* se sont montrés répulsifs vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus*.

Hamdani (2012), pour sa part, ayant étudié l'effet répulsif de quatre espèces de Rutacées sur la bruche d'*A. obtectus*, montre que l'huile essentielle de bigaradier est la plus répulsive (70%). Contrairement à nos résultats, l'huile essentielle de bigaradier s'est avérée modérément répulsive (56.66%).

Des travaux sont réalisés par Goucem-Khelfane (2014) sur l'effet répulsion des huiles essentielles de neuf plantes aromatiques contre *A. obtectus* font ressortir que les huiles essentielles de *Laurus nobilis*, *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia*, *Citrus reticulata* et *Citrus aurantium ssp. bergamia* sont répulsives avec des taux respectifs de 73,75%; 71,25%; 63,75%; 63,75% et 61,78% et les huiles essentielles de *Thymus satureioides* (53,75%), *Eucalyptus globulus* (51,25%) et *Citrus limonum* (43,75%) sont moyennement répulsives.

3. Evaluation de l'effet biocide de l'huile essentielle par inhalation

D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans la figure 21, la mortalité moyenne des adultes d'*A. obtectus* augmente en fonction de la dose et de la durée d'exposition à l'huile essentielle d'orange amère.

Le pourcentage de mortalité enregistré dans les lots témoins est nul même après 96h d'exposition à l'huile essentielle ; par contre pour les doses 1 μ l et 2 μ l, une très faible mortalité est enregistrée qui est respectivement de 0.21 et 0.82 morts, après 48 heures d'exposition. La mortalité est en moyenne de 5.42 et 2.57, respectivement pour les doses 3 μ l et 4 μ l.

Nous avons enregistré une mortalité de 100% pour l'huile essentielle d'orange amère aux doses 5 μ l et 6 μ l, par conséquent celle-ci à un effet par inhalation important sur la bruche du haricot.

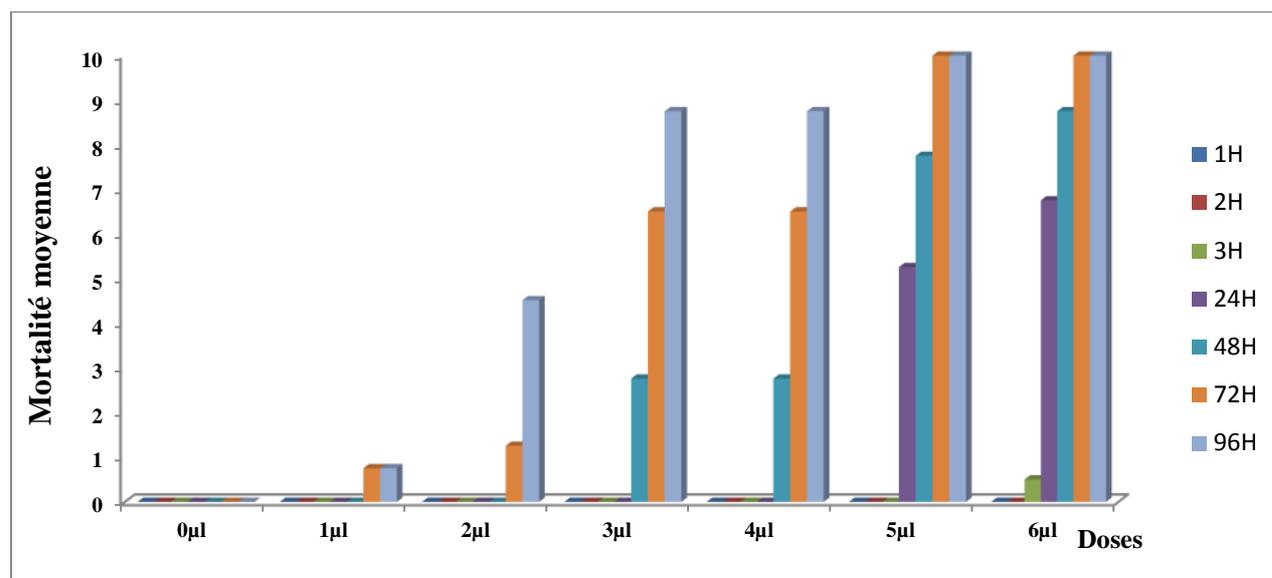


Figure 21. Mortalité moyenne (%) des adultes d'*A. obtectus* après traitement à l'huile d'orange amère en fonction de la dose et du temps d'exposition.

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle qu'il ya une différence très hautement significative à la fois pour le facteur dose d'huile essentielle d'orange amère ($P=0,001$) et le facteur temps ($P=0,0006$) en ce qui concerne la mortalité des adultes d'*A. obtectus* traités par inhalation (Tableau 13, Annexe 7).

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe les doses d'huile essentielle d'orange amère utilisées pour le paramètre mortalité par inhalation dans 3 groupes homogènes.

Tableau 13. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'effet du facteur dose d'huile d'orange amère, sur la mortalité des adultes d'*A. obtectus* traités par inhalation.

| Doses | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|---|
| 4.0 | d3 | 5,429 | A | | |
| 6.0 | d5 | 4,714 | A | B | |
| 7.0 | d6 | 4,286 | A | B | |
| 5.0 | d4 | 2,571 | A | B | C |
| 3.0 | d2 | 0,821 | | B | C |
| 2.0 | d1 | 0,214 | | | C |
| 1.0 | d0 | 0 | | | C |

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification 5%, classe le temps d'exposition des adultes d'*A. obtectus* à l'huile essentielle d'orange amère dans 3 groupes homogènes (Tableau 14, Annexe 8).

Tableau 14. Résultats du test de Newman et Keuls pour l'effet du facteur temps d'exposition par inhalation à l'huile essentielle d'orange amère, sur la mortalité des adultes d'*A. obtectus*.

| Temps | Libelles | Moyennes | Groupes Homogènes | | |
|-------|----------|----------|-------------------|---|---|
| 7.0 | t7 | 6,107 | A | | |
| 6.0 | t6 | 5 | A | B | |
| 5.0 | t5 | 3,143 | A | B | C |
| 4.0 | t4 | 2,286 | A | B | C |
| 3.0 | t3 | 1,5 | | B | C |
| 1.0 | t1 | 0 | | | C |
| 2.0 | t2 | 0 | | | C |

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles agissent par répulsion en émettant des substances volatiles (terpènes) qui constituent une barrière empêchant les insectes de se mettre en contact avec la surface de l'hôte (Brown et Herbert, 1997).

Nos résultats se rapprochent des travaux qui ont été effectués par Rossi et *al* (2012) sur les propriétés insecticides, par inhalation, de l'huile essentielle de *Citrus bergamia* à l'égard des adultes de *Sitophilus zeamais* qui ont signalé une mortalité significative après 96 heures d'exposition à une dose de 10 $\mu\text{l Cm}^{-2}$. Ils ont observé également que l'huile de bergamote, à la dose 0.75 $\mu\text{l insecte}^{-1}$, 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 $\mu\text{l insecte}^{-1}$ après 96 heures.

Hamdani (2012) a montré que les taux de mortalité des adultes d'*A. obtectus* sont proportionnels aux deux facteurs dose et temps pour les quatre huiles essentielles d'agrumes testées par inhalations. Le pourcentage de mortalité le moins élevé est enregistré pour l'huile essentielle de l'oranger avec une moyenne de 18,33%, tandis que le plus élevé est noté pour l'huile de bigaradier avec une moyenne de 79,27% sur l'ensemble des doses et des durées de traitement.

Goucem-Khelfane (2014) a noté que les huiles essentielles utilisées aux doses de 0; 10; 30; 60; et 80 μl / 1 litre de volume d'air 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 (10 μl) après une durée d'exposition de 72 heures. Quant aux huiles de citronnier, mandarinier et cèdre, le taux de mortalité maximal enregistré est environ 80% obtenu après 96 heures d'exposition à la dose de 80 μl d'huile essentielle.

Le même auteur a constaté que 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 40 μl / 1 litre de volume d'air ont engendré des taux de mortalité de 100 % à la plus forte dose utilisée (40 μl) après 96 heures d'exposition. Une mortalité totale est enregistrée pour le thym à la dose de 10 μl après 72 heures d'exposition.

Les résultats obtenus avec les traitements effectués dans les conditions de laboratoire révèlent que l'huile essentielle de bigaradier testée affectent les paramètres biologiques d'*A. obtectus* et agronomiques des graines de haricot.

Il ressort globalement, qu'au fur et à mesure de l'augmentation des doses testées par contact et inhalation, la mortalité des adultes d'*A. obtectus* augmente aussi.

Les doses d'huile essentielle testée par contact semblent avoir toutes un effet toxique à l'égard de la bruche du haricot *A. obtectus*. Les faibles doses d'huile essentielle d'orange amère, (1; 2; 3 et 4 μ l) ont induit des taux de mortalité élevés, après 6 jours. Les plus fortes doses (5 et 6 μ l), se sont montrées plus efficaces enregistrant un taux de mortalité de 100% des individus après 11 jours d'exposition.

Le taux d'éclosion ne révèle aucune différence significative pour le facteur dose de l'huile essentielle de bigaradier. La fécondité des femelles est significativement réduite à la dose de 6 μ l, montrant un effet relativement important sur les taux d'émergence qui réduit nettement le nombre de descendants comparativement à la série témoin.

L'utilisation de ces substances, a montré un effet protecteur des graines de haricot traitées, puisque les pertes en poids enregistrées sont de 1.16% à la plus forte dose et le pouvoir germinatif des graines est préservé au fur et à mesure que la dose de l'huile essentielle testée augmente.

En ce qui concerne le test de répulsion, l'huile essentielle de l'orange amère est placée dans la classe III; C'est donc une huile modérément répulsive avec un taux moyen de répulsion de 56.66%.

Les résultats des traitements par inhalation sur la bruche du haricot enregistre une mortalité totale de 100% des individus après 72h d'exposition à la dose 5 μ l uniquement.

Les résultats obtenus suggèrent que l'huile essentielle de bigaradier peut constituer un moyen de lutte efficace, car elle affecte négativement la reproduction de l'insecte tout en préservant les exigences agronomiques de la graine du haricot, mais il serait intéressant de tester les huiles essentielles extraites d'autres parties du bigaradier et particulièrement les graines.

Par ailleurs, d'autres investigations doivent être envisagées afin de découvrir des plantes dotées de propriétés insecticides et non toxiques pour l'homme, surtout que la flore algérienne est riche en espèces végétales connues pour leurs diverses propriétés.

Il serait également judicieux d'entamer des expériences de confirmation ayant pour objectif de vérifier dans des conditions aussi proches de la pratique les conclusions des travaux précédents surtout concernant les plantes qui ont révélé une certaine efficacité, puis affiner les recherches pour identifier et isoler leurs matières actives.

L'utilisation de biopesticides dans la protection des grains stockés peut représenter une des méthodes les plus appropriées en raison des différents avantages qu'elle peut offrir (efficacité, pas de toxicité et coût financier très réduit).

Actuellement, cette méthode de lutte pourrait devenir une bonne alternative en Algérie qui souffre d'un grand déséquilibre économique, en effet en plus des dépenses faramineuses occasionnées par l'importation des légumes secs, l'approvisionnement en pesticides constitue également une grande charge financière et leur utilisation représente un danger certain pour le consommateur.

Quelle que soit la forme de lutte, il faut accepter que les insectes ravageurs prennent leur part de récoltes, le but de cette forme de lutte est de diminuer le taux de parasitisme au dessous d'un seuil acceptable.

1. **Anonyme, 2009.** Haricot. Microsoft Encyclopedia [DVD]. Microsoft Corporation 2008.
2. **Aoudjit H. et Afiri T. 2005.** Action de quelques extraits végétaux sur la bruche du niébé *C. maculatus* F (Coleoptera: Bruchidae). Mémoire d'Ing en Biologie U.M.M.T.O. p 6.
3. **Bachelot S., Blaise D., Corbel F. et Guernic L., 2006.** Huiles essentielles extraction et comparaison, thèse licence 2 biologie (U.C.Ü Bretagne Nord), 60p.
4. **Balachowsky A.S. 1962.** Entomologie appliquée à l'agriculture, les Coléoptères. Ed. Masson et Cie, Paris. T1, 564p.
5. **Balon N. et Kimon H. 1985.** Nutrition azotée des légumineuses : Nitrogen nutrition of légumes. Institut National de Recherche Agronomique. 281p.
6. **Balon N. et Kimon H., 1985.** Nutrition azotée des légumineuses : Nitrogen nutrition of légumes. Institut National de Recherche Agronomique. 281p.
7. **Baudoin J.P. 2001.** Contribution des ressources phytogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 5(4) : 221-230.
8. **Belkhalfa Z et Bousba M., 2008.** Effet de trois huiles essentielles sur l'activité biologique de la bruche de niébé. Mémoire d'Ing. En biologie U.M.M.T.O. P42.44.46.50.
9. **Bonnemaison L. 1962.** Les ennemis animaux des plantes cultivées et des forêts. Ed. SEP, Paris, pp. 503 p.
10. **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.
11. **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.
12. **Caillet S. et Lacroix M., 2008.** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaires. Rapport de Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA).
13. **Cavaillès E., 2009.** La relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protéine: quels bénéfices environnementaux? Etudes et documents. Service de l'économie, de

- l'évaluation et de l'intégration du développement durable. Commissariat Général au développement durable de la France. n°15. 44p.
14. **Chaux C.L., Foury C.L. 1994.** Production légumière. Tome III. Légumineuses potagères, légumes fruits. Edition Lavoisier. Paris.854p.
 15. **Chiasson H. et Beloin N., 2007.** Les huiles essentielles des biopesticides (nouveau genre). Bulletin de la Société d'Entomologie du Québec, Antennae 2007, Vol. 14, n°1. 4P.
 16. **Couderc V. L ., 2001.** La toxicité des huiles essentielles. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires à l'Université de Paul- Sabatier de Toulouse. 89P.
 17. **Credland P.F. 1990.** Biotype variation and host changein 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.
 18. **Dagnelie P. 1975.** Théories et méthodes statistiques. Les presses agronomiques de Gembloux, 2 : 245-249.
 19. **Delobel A. et Tran B., 1993.** Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, Paris, 424p.
 20. **Desmares C., Laurent A. et Delerme C., 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles-Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles- Ed. afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. 18P.
 21. **Didier C., 1984.** La culture des agrumes en Irak. Edition IRFA Fruit, 39, PP 189- 205.
 22. **Don-Pedro. N., 1985.** Toxicity of some citrus peels to *Dermistes maculatus* Deg. And *Callosobruchus maculates* (F). Journal of stored products research. 21(1), PP 31-34.
 23. **Dorée A. 2000.** Flore pastorale de montagne : Graminées, Légumineuses et autres Plantes Fourragères. Vol. 2. Ed. Quae, 227 p
 24. **Dupont P., 1990.** Les haricots. P396-493.
 25. **El Kalamouni C., 2010.** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi- Pyrénérotat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. 283p.
 26. FAO 2006. <http://faostat fao.org>
 27. **Franssen C.J., 1956.** De levenswijze en de bnestrijding van de bonekever *Acanthoscelides obtectus* Say (Mededeling n° 143). Meded. Dir. Tuinb. 19, PP 797-899.
 28. **Gallas A. Et Bennfort H., 1992.** Amélioration des espèces végétales cultivées, objectifs et critères de la sélection- Paris. Ed : INRA. PP75-142.

29. **Gama P.B.S., Inanaga S., Tanaka K., and Nakazawar., 2007.** Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. African journal of Biotechnology Vol. 6 (2), pp. 079-088.
30. **Geerts P., Toussaint A., Mergeai G, Baudoin J.P., 2011.** *Phaseolus* immature embryo rescue technology. Methods In Molecular Biology Clifton, 710, PP 117-129.
31. **Gentry H.S., 1969.** Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. Economic Botany. 23PP 55–69.
32. **Goix J., 1986.** Défense des cultures. Phytoma. November 1986. PP48-49
33. **Gordon M. 2000.** Haricots secs : situation actuelle et perspectives. Le Bulletin bimensuel, 13 Octobre 2000, 13, 16. Agriculture et Agro-alimentaire Canada. 6 p.
34. **Goucem k, 2014.** 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*). Thèse de doctorat. UMMTO. 144p.
35. **Gueye M., Seck D., Wathelet J., et Lognay G., 2010.** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. PP 183-194.
36. **Guignard J.L., 1998.** Botanique, Ed. Masson, 159p.
37. **Hadrich B., Dahak K., Abdenouri N. et Kechaoul N., 2008.** Etude de séchage des feuilles de bigaradier. Revue des énergies renouvelables. SMSTS 08 Alger. PP 145-149
38. **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.
39. **Hamoudi N et Temmar O., 2009.** Etude des effets insecticides de deux huiles essentielles de l'orange douce et de la carotte sur la biologie de la bruche du niébé *C. maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). Mémoire d'Ing en biologie U.M.M.T.O.67p.
40. **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

41. **Huete A., 2012.** Huiles essentielles pour tous les jours - le bon réflexe- . Ed Artémis, Losange, Chamalières, France. 223p.
42. **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.
43. **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.
44. **Ibrahim M.A., Kainulainen P., Afatuni A., Tilikkala K. et Holopainen J.K., 2001.** Insecticidal, repellent antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limolene and its suitability for control of insect pests. Agricultural and Food Science in Finland, 10, 3, PP 243-259.
45. **Ibrahima C., 2006.** Activité de renforcement de la commercialisation agricole la filière haricot vert extra fin de guinée: situation actuelle et perspectives de développement en exportation USAID/Guinée, NRM SO. N°29.28p.
46. **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.
47. **Ihidoussen H. et Ouendi N. (2009).** Effet des huiles essentielles de *Citrus limonum* et *Citrus reticulata* sur l'activité biologique de la bruche du haricot: *A. obtectus* say. (Coléoptera: Bruchidae). Mémoire d'ing en biologie. U.M.M.T.O. p43-59.
48. **Kasambala S., Hendry A.M. 1986.** Comment protéger les haricots en stock contre les charançons. CIAT 40, 1p
49. **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.
50. **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.

51. **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.
52. **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.
53. **Kone S., 2001.** Extraction des huiles essentielles par distillation. 6p.
54. **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.
55. **Labeyrie V. 1962.** Les *Acanthoscelides obtectus*. In : Entomologie Appliquée à l'Agriculture. Ed. A.S. Balachowsky. T1, Masson. Paris, pp. 469-484.
56. **Laumonier R. 1979.** Cultures légumières et maraîchères. Ed. J.B. Balliere, 273p.
57. **Marx E; 1986.** La diversité des plantes légumières: hier, aujourd'hui et demain- Evolution et situation et variétale actuelle chez le haricot-. Ed. JATBA (Journal d'Agriculture Traditionnelle et de Botanique Appliquée). P25-32.
58. **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.
59. **Messiaen C.M., 1992.** L'intérêt de lignées collectées en Haïti pour l'amélioration variétale du haricot grain. Agronomie 12, PP 503-513.
60. **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.
61. **Ngamo L.S.T et Hance Th., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, 2007. 25, 4, 215-220.
62. **Nyabyenda P. 2005.** Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. Ed. Tec. & Doc., les Presses Agronomiques de Gembloux, 223p.
63. **Péron J. Y. 2006.** Productions légumières. 2ème édition. Lavoisier. 389 p.
64. **Perris F., 1874.** Biologie de quelques coléoptères- Ann. Soc. Ent. France. 171p.
65. **Pibiri M.C., 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat de l'Institut des infrastructures, des ressources et de l'environnement -section d'architecture -Ecole polytechnique Fédération de Lausanne, France. 177P.

66. **Pouzat J. 1978.** Host plant chemosensory influence on oogenesis in the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Entomologia Experimentalis Applicata* 24: 401-408.
67. **Regnault-Roger C. 2002.** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième illénaire? In *Biopesticides d'origine végétale*, ed. C. Regnault-Roger, B.J.R. Philogène, C. Vincent Paris: Lavoisier Tech & Doc, pp. 19-40.
68. **Regnault-Roger C. et 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, PP 291-299.
69. **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
70. **Roland J. C., 2002.** Des plantes et des hommes. Ed. Vuibert. PP 45-46.
71. **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.
72. **Sanon A. Garba M. Auger J. et Huignard J., 2002.** Activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Stor. Prod. Res.* 38, PP 129-138p.
73. **Serpeille A., 1991.** La bruche du haricot: un combat facile? *Bulletin semences* N°116, Ed: FNAMS, Paris,pp: 32-34.
74. **Silué S. 2009.** Mécanismes génétiques de l'embryogenèse chez *Phaseolus* et application en hybridation interspécifique. Thèse Doc. Ingénierie Biologique, Univ. de Gembloux, Belgique, 172p.
75. **Silue., Jacquemin J. et Baudoin J., 2010.** Utilisation des mutations induites pour l'étude de l'embryogenèse chez le haricot *P. vulgaris* L. et deux plantes modèles, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Et *Zea mays* L. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* PP195-205.
76. **Soltner D. 1990.** Les bases de la reproduction végétale. Sol, climat, plante. Edition Lavoisier, 464p.
77. **Sutour S., 2010.** Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat de l'Université de Corse Pascal PAOLI.
78. **Tapondjou L. A., Adler C., Bouda H., et Fontemd. 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 d'études et de recherches francophones, Agricultures, 12 (6), PP 401-407.

79. **Vanhuis D., 1991.** Biological method of Bruchid control in the tropic. A review insect science. Applic. 12(1-2-3), PP 87-102.
80. **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.

Annexes

Annexe 1. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre mortalité des adultes d'*A. obtectus* traités par contact avec l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses et temps d'exposition.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|----------|-----|--------|--------|-------|-------|--------|
| VAR.TOTALE | 1163,472 | 83 | 14,018 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 525,061 | 6 | 87,51 | 30,849 | 0 | | |
| VAR.FACTEUR 2 | 451,187 | 11 | 41,017 | 14,459 | 0 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 187,225 | 66 | 2,837 | | | 1,684 | 48,58% |

Annexe 2. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre fécondité des femelles d'*A. obtectus* traités par contact avec l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses et temps d'exposition.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|----------|-----|----------|--------|-------|--------|--------|
| VAR.TOTALE | 60871,43 | 27 | 2254,497 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 50587,43 | 6 | 8431,238 | 17,217 | 0 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 10284 | 21 | 489,714 | | | 22,129 | 20,65% |

Annexe 3. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre éclosion des œufs d'*A. obtectus* traités par contact avec l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|----------|-----|----------|--------|---------|--------|--------|
| VAR.TOTALE | 28650,19 | 27 | 1061,118 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 6452,77 | 6 | 1075,462 | 1,017 | 0,44146 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 22197,42 | 21 | 1057,02 | | | 32,512 | 36,28% |

Annexe 4. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre émergence des adultes d'*A. obtectus* traités par contact avec l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|---------|-----|--------|--------|---------|-------|--------|
| VAR.TOTALE | 316,508 | 27 | 11,723 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 140,59 | 6 | 23,432 | 2,797 | 0,03678 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 175,918 | 21 | 8,377 | | | 2,894 | 45,25% |

Annexe 5. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre perte en poids des graines de *p. vulgaris* traités par contact avec l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|---------|-----|--------|--------|---------|-------|--------|
| VAR.TOTALE | 221,375 | 27 | 8,199 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 163,83 | 6 | 27,305 | 9,965 | 0,00004 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 57,544 | 21 | 2,74 | | | 1,655 | 36,77% |

Annexe 6. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre germination des graine de haricot traitées par contact avec l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|----------|-----|----------|--------|-------|-------|--------|
| VAR.TOTALE | 9110,857 | 27 | 337,439 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 7950,857 | 6 | 1325,143 | 23,99 | 0 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 1160 | 21 | 55,238 | | | 7,432 | 17,11% |

Annexe 7. Analyse de la variance au seuil de 5% pour le taux de répulsion des adultes d'*A. obtectus* traités par l'huile essentielle d'orange amère à différentes doses.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|----------|-----|---------|--------|---------|-------|--------|
| VAR.TOTALE | 13533,33 | 23 | 588,406 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 3533,334 | 5 | 706,667 | 1,272 | 0,31849 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 10000 | 18 | 555,556 | | | 23,57 | 40,41% |

Annexe 8. Analyse de la variance au seuil 5% pour le paramètre mortalité des adultes d'*A. obtectus* traités par inhalation avec l'huile essentielle d'orange amère.

| | S.C.E | DDL | C.M. | TEST F | PROBA | E.T. | C.V. |
|---------------------|---------|-----|--------|--------|---------|-------|---------|
| VAR.TOTALE | 715,401 | 48 | 14,904 | | | | |
| VAR.FACTEUR 1 | 216,472 | 6 | 36,079 | 4,871 | 0,00102 | | |
| VAR.FACTEUR 2 | 232,258 | 6 | 38,71 | 5,226 | 0,00062 | | |
| VAR.RESIDUELLE 1 | 266,671 | 36 | 7,408 | | | 2,722 | 105,63% |

Résumé

L'huile essentielle extraite par expression à froid des zestes des fruits frais de bigaradier Algériens, *Citrus aurantium* L.ssp. *amara*, a été testée à différentes doses (1µl, 2µl, 3µl, 4µl, 5µl et 6µl) et dans des conditions de laboratoire (30°C et 70% HR) sur la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* Say afin d'évaluer sa toxicité à l'égard de ce ravageur. Différents paramètres biologiques de l'insecte et agronomiques des graines ont été étudiés pour le test par contact à savoir la mortalité, la fécondité des femelles le taux d'éclosion des œufs, le taux d'émergence, la perte en poids et le pouvoir germinatif des graines de haricot. L'huile essentielle est également évaluée par répulsion et par inhalation.

Dans l'ensemble des tests par contact, l'huile essentielle de bigaradier montre un effet biocide important à l'égard d'*A. obtectus*, les différentes doses sont toxiques au fur et à mesure qu'elles augmentent. Les plus fortes doses (5 et 6 µl), se sont montrées plus efficaces enregistrant un taux de mortalité de 100% des individus après 11 jours d'exposition. La fécondité des femelles et le taux d'éclosion des œufs sont significativement réduits à la dose de 6µl, montrant un effet relativement important sur les taux d'émergence qui réduit nettement le nombre de descendants comparativement à la série témoin. L'utilisation de ces substances, a montré un effet protecteur des graines de haricot traitées, puisque les pertes en poids enregistrées sont de 1.16% à la plus forte dose et le pouvoir germinatif des graines est préservé au fur et à mesure que la dose de l'huile essentielle testée augmente. Le test par répulsion révèle que l'huile essentielle de bigaradier est placée dans la classe III; C'est donc une huile modérément répulsive avec un taux moyen de répulsion de 56.66%. Toutes les doses d'huile essentielle testées par inhalation ont révélé un effet insecticide très hautement significatif sur la mortalité des adultes d'*A. obtectus*.

Nos résultats démontrent une activité insecticide très marquée de l'huile essentielle extraite des fruits frais de bigaradier à l'égard d'*A. obtectus*, sa toxicité varie selon le type de test (contact, Répulsion et inhalation). par conséquent, cette huile essentielle pourrait être utilisée comme moyen de lutte alternative dans les stocks.

Mots clés- *Acanthoscelides obtectus*, *Phaseolus vulgaris*, Huile essentielle, Bigaradier, Bioinsecticides

Abstract

The essential oil extracted by cold expression from fresh fruits zest of Algerian bitter orange, *Citrus aurantium* L.ssp. *amara*, was tested at different doses (1µl, 2µl, 3µl, 4µl, 5µl and 6µl) and under laboratory conditions (30°C and 70% RH) on the bean beetle *Acanthoscelides obtectus* Say to assess its toxicity against this pest. Different biological parameters of the insect and agronomic parameters of seeds were studied for the contact test namely mortality, female fertility, egg hatching rate, emergence rate, weight loss and germination capacity of bean seeds. The essential oil was also evaluated by repulsion and by inhalation.

In all contact tests, the essential oil of bitter orange showed a significant biocidal effect on *A. obtectus* where the different doses were toxic as they increase. The highest doses (5 and 6 µl) were more effective, recording a mortality rate of 100% of individuals after 11 days of exposure. Female fecundity and egg hatching rate were significantly reduced at 6µl, showing a relatively large effect on emergence rates that significantly reduced the number of offspring compared to the control series. The use of these substances showed a protective effect of the treated bean seeds, since the registered weight losses were 1.16% at the highest dose and the germination capacity of the seeds was preserved when the dose of the essential oil tested increases. The repulsion test revealed that the essential oil of bitter orange is placed in class III; It is therefore a moderately repellent oil with an average repulsion rate of 56.66%. All doses of essential oil tested by inhalation revealed a very highly significant insecticidal effect upon *A. obtectus* adults.

Our results demonstrate a very strong insecticidal activity of the essential oil extracted from fresh fruits of bitter orange against *A. obtectus*, its toxicity varies according to the type of test (contact, repulsion and inhalation). Thus, this essential oil could be used as a tool of alternative control in the stocks.

Key words- *Acanthoscelides obtectus*, *Phaseolus vulgaris*, Essential oil, bitter orange, bioinsecticides.