

Université MUSTAPHA Stambouli
Mascara



جامعة مصطفى أسطمبولي
معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Agronomiques

Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et la Géomantique LRSBG

THESE de DOCTORAT

Spécialité : Phytopharmacie et Protection des Végétaux

Intitulée:

Les ravageurs des denrées stockées: Importance économique et développement d'une approche de lutte intégrée

Présentée par : Mm SEKRANE Fatima Zohra Youssra

Le...../...../2023

Devant le jury :

Président	MILOUDI Ali	Professeur	Université M. S. de Mascara
Examineur	ELOUISSI Mouffok	Professeur	Université M. S. de Mascara
Examineur	GHELAM ALLAH Amine	MCA	Université A.I.B.de Mostaganem
Examineur	MERZOUG Aoumria	MCA	Université M. S. de Mascara
Encadrant	RIGHI ASSIA Fatiha	Professeur	Université M.S.de Mascara
Co-encadrant	MADANI Zohra	MCA	Université M.S.de Mascara

Année Universitaire : 2022-2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



﴿ قَالَ تَزْرَعُونَ سَبْعَ سِنِينَ دَأْبًا فَمَا حَصَدْتُمْ فَذَرُوهُ
فِي سُنْبُلِهِ إِلَّا قَلِيلًا مِمَّا تَأْكُلُونَ [47] ثُمَّ يَأْتِي مِنْ
بَعْدِ ذَلِكَ سَبْعَ شِدَادٍ يَأْكُلْنَ مَا قَدَّمْتُمْ لَهُنَّ إِلَّا قَلِيلًا
مِمَّا تُحْصِنُونَ [48] ثُمَّ يَأْتِي مِنْ بَعْدِ ذَلِكَ عَامٌ
فِيهِ يُغَاثُ النَّاسُ وَفِيهِ يَعْصِرُونَ ﴾

Je dédie cette thèse à :

A mes très Chers Parents, qui ont toujours été là pour moi, sans vous cette thèse n'aurait jamais pu être menée jusqu'au bout « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Vous vous êtes dépensés pour moi sans compter. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fière ».

À mon cher époux : Merci d'être là tous les jours et d'être toujours à mes côtés pour traverser ces étapes de ma vie

A mon fils Mohamed Noufel, le plus beau don de Dieu, la lumière de ma vie

A mes frères Mohamed et Fadhl El Lah et mes sœurs Sara et Kaouther en témoignage de leur soutien et encouragement

A ma belle famille, puisse Dieu vous procurer une longue vie

Et enfin j'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions.

Remerciement

Ce travail n'a été achevé qu'à grâce à Dieu qui nous a fait naître dans une nation parmi un peuple qui respecte les Sciences. Et cela suite à sa doctrine et à sa foi ou elle nous recommande le droit de savoir et de lire suite à la sourate « أَفْرَأُ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ (العلق) » au moment où le prophète Mohamed (que le salut soit sur lui) se prosternait, médite dans la caverne (Hiraa).

Je tiens à rendre un hommage respectueux et ma reconnaissance à mon encadrant Madame RIGHI ASSIA F. Professeur à l'université de Mascara, Je la remercie de m'avoir encadrée, orientée, aidée et conseillée. Sa générosité et sa bienveillance avec laquelle elle a dirigé ce travail, en dépit de ses multiples préoccupations et pour la confiance qu'elle a voulu m'accorder en me proposant ce sujet et de mettre à ma disposition tous les moyens pour la réalisation de ce travail.

Je remercie mon Co-encadrant Madame Madani Zohra MCA à l'université de Mascara

Mes remerciements s'adressent à Monsieur MILOUDI Ali Professeur à l'Université de Mascara de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury,

J'exprime ma sincère gratitude à Monsieur ELOUISSI Mouffok Professeur à l'Université de Mascara d'avoir accepté l'examen de ce travail

Je remercie Madame, MERZOUG Aoumria MCA, enseignante à l'université de Mascara d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie très vivement Monsieur GHELAM ALLAH Amine MCA, enseignant à l'université de Mostaganem d'avoir trouvé un intérêt pour le jugement scientifique de mon travail

Je remercie Pr BENYOUSSEF M. pour son aide, ces conseils fructueux et ces encouragements

Ma profonde gratitude et mon plus vif remerciement vont à Monsieur BOUKHARI.Y pour son aide lors du travail expérimentale.

Mes plus vifs remerciements vont à Monsieur RIGHI K. pour ses précieux conseils et ses encouragements.

J'exprime également ma reconnaissance à Pr ISMAIL KARACA «Isparta University of Applied Sciences, Agricultural Faculty, Plant Protection Department, Türkiye» de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire. Votre soutien cher professeur, votre aide et votre extrême gentillesse étaient pour moi un très grand support pour la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.

Je remercie également Pr NURPER GUZ et Dr SENA SHAGATAY de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire.

Je remercie Docteur Khaladi B pour son aide

Merci au personnel de la ferme expérimentale de l'université

Et à mes collègues doctorants

Les Ravageurs des Denrées Stockées: Importance Economique et Développement d'une Approche de Lutte Intégrée

SEKRANE F.Z.Y.

Fac. SNV. Laboratoire LRSBG
Université Mustapha Stambouli Mascara

Résumé

Les denrées stockées sont constamment menacées par plusieurs agents de détérioration qui sont responsables des pertes qualitatives et quantitatives dont les insectes et plus particulièrement *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*. Afin de contribuer à l'élaboration d'une stratégie de lutte intégrée vis-à-vis de ces deux ravageurs, un ensemble de méthode de lutte a été évalué sous des conditions contrôlées de laboratoire (T : 28°C et H 75%). On se basant sur les résultats d'identification moléculaire de *T confusum* et *S oryzae*. l'ADN des deux espèces amplifiées était avec précision (99,99%). L'étude bioécologique réalisée pour chaque espèce a démontré l'intérêt des paramètres biologiques tel que la fécondité, la fertilité, la longévité, la durée du cycle de développement ainsi que la durée d'incubation dans la maîtrise des ravageurs au temps opportun quelque soit la méthode de lutte utilisée. l'inventaire des insectes des denrées stockées étudié a révélé que *S oryzae* et *T confusum* sont très fréquentes, leurs pourcentage d'attaque (PA%) calculé est respectivement 98,42% et 95%. Le calcul des rendements des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle* est respectivement 1.86, 1.77, 1.70, 2.04 et 1.65%. Afin de déterminer les molécules responsables de l'effet biocide engendré sur les insectes par l'HE de *Thymus vulgaris*, une analyse par (CPG/SM) a été réalisée et qui a permis d'identifier 362 composés dont le Carcacrol (36.61), Gamma – Terpinene (2.99%), Carvomenthone (3.08%) et p-Cimene (2.11%). De même le criblage phytochimique a révélé que les extraits aqueux sont riches en : polyphénols, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, quinones et anthraquinones. Ces résultats nous ont aidé à expliquer le potentiel insecticide que possède nos plantes. La lutte biologique par utilisation d'une part des plantes médicinales a démontré que les plantes testées possèdent des propriétés bio insecticides remarquables surtout la poudre et l'huile extraite à partir de *M. rotundifolia* qui ont enregistré des taux de mortalité de (100%) à la plus faible dose et d'autre part par l'utilisation de l'entomophage *Beauveria bassiana* qui a causé des taux de mortalité importants (100%) au bout de 98H. Une autre voie de lutte est étudiée dans le contexte de cet axe de recherche, il s'agit de la lutte physique par exposition des deux espèces à des températures maximales létales comprises entre (37°C et 50°C) et des températures minimales létales comprises entre (0°C et -4°C) pendant deux jours. Ces températures ont engendré des taux de mortalité de 100%. Dans le but de compléter notre approche de lutte intégrée, un test d'un produit de synthèse (le Thiazoline) à la dose de 2µg/ml est réalisé. Les résultats ont montré des taux de mortalité de 100% chez les deux espèces après 72 heures. Notre recherche est achevée par une étude toxicologique menée sur la ras Wistar pendant 91 jours et qui a démontré que les plantes testées comme bio insecticides ne présentent aucun danger sur la santé du consommateur une fois appliquées pour protéger les denrées stockées, encore plus elles possèdent des propriétés antioxydantes puissantes selon nos résultats.

Mots clés : Blé, Bio insecticide, Denrées stockées, Lutte intégrée, *Sitophilus oryzae*, Toxicité, *Tribolium confusum*, *Beauveria bassiana*.

Stored Food Pests: Economic Importance and Development of an Integrated Pest Management Approach

SEKRANE F.Z.Y.

Faculty of Natural and Life Sciences. Laboratory LR SBG

University of Mascara

Abstract

The stored foods are constantly endangered by several agents of deterioration which are responsible for the qualitative and quantitative losses of which the insects and more particularly *Sitophilus oryzae* and *Tribolium confusum*. In order to contribute to the development of an integrated pest management strategy for these two pests, a set of control methods was evaluated under controlled laboratory conditions (T: 28°C and H 75%). Based on the results of molecular identification of *T. Confusum* and *S. oryzae*. The DNA of both species amplified was with accuracy (99.99%). The bioecological study carried out for each species showed the interest of biological parameters such as fecundity, fertility, longevity, duration of the development cycle as well as the duration of incubation in the control of the pests at the appropriate time whatever the control method used. The inventory of insects of stored foods studied revealed that *S. oryzae* and *T. confusum* are very frequent, their percentage of attack (PA %) calculated is 98.42% and 95% respectively. The calculation of yields of essential oils of *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* and *Schinus molle* is 1.86, 1.77, 1.70, 2.04 and 1.65% respectively. In order to determine the molecules responsible for the biocidal effect generated on insects by the EO of *Thymus vulgaris*, an analysis by (CPG/SM) was carried out and which made it possible to identify 362 compounds of which Carcacrol (36.61), Gamma -Terpinene (2.99%), Carvomenthone (3.08%) and p-Cimene (2.11%). Also the phytochemical screening revealed that the aqueous extracts are rich in: polyphenols, flavonoids, tannins, terpenoids, quinones and anthraquinones. These results helped us to explain the insecticidal potential of our plants. The biological control by using on the one hand medicinal plants showed that the tested plants have remarkable bio insecticidal properties especially the powder and oil extracted from *M. rotundifolia* which recorded mortality rates of (100%) at the lowest dose and on the other hand by using the entomopathogen *Beauveria bassiana* which caused important mortality rates (100%) after 98H. Another way of control is studied in the context of this research axis, it is the physical control by exposing the two species to maximum lethal temperatures between (37°C and 50°C) and minimum lethal temperatures between (0°C and -4°C) for two days. In order to complete our approach of integrated pest management, a test of a synthetic product (Thiazoline) at the dose of 2µg/ml is carried out. The results showed mortality rates of 100% in both species after 72 hours. Our research is completed by a toxicological study carried out on the Wistar razor during 91 days and which showed that the plants tested as bio-insecticides do not present any danger on the health of the consumer once applied to protect the stored foodstuffs, even more so they have powerful antioxidant properties according to our results.

Keywords: Wheat, Bio insecticide, Stored commodities, Integrated pest management, *Sitophilus oryzae*, Toxicity, *Tribolium confusum*, *Beauveria bassiana*.

آفات السلع المخزنة: الأهمية الاقتصادية وتطوير نهج الإدارة المتكاملة للآفات

سكران فاطمة الزهراء يسرى

كلية الطبيعة والحياة مخبر الأنظمة البيولوجية و الجيوماتيك

جامعة معسكر

ملخص

تعرض المواد الغذائية المخزنة للتهديد المستمر من قبل العديد من عوامل التدهور المسؤولة عن الخسائر النوعية والكمية ، بما في ذلك الحشرات وخاصة *Sitophilus oryzae* و *Tribolium confusum*. من أجل المساهمة في تطوير استراتيجية مكافحة متكاملة ضد هاتين الآفتين ، تم تقييم مجموعة من طرق المكافحة في ظل ظروف مخبرية مسيطرة (C 28 ° و T: 75 H)٪. بناءً على نتائج التعريف الجزيئي لـ *T.confusum* و *S. oryzae* تم تضخيم الحمض النووي لكلا النوعين بدقة (99.99٪). أظهرت الدراسة البيولوجية البيئية التي أجريت لكل نوع من الحشرات أهمية العوامل البيولوجية مثل الخصوبة وطول العمر ومدة دورة التنمية وكذلك مدة الحضانة في مكافحة الآفات في الوقت المناسب مهما كانت طريقة المكافحة المستخدمة. كشف جرد الحشرات في المواد الغذائية المخزنة التي تمت دراستها أن *S. oryzae* و *T. confusum* موجودة بكثرة بحيث كانت النسبة المئوية المحسوبة للهجوم (AP٪) على التوالي 98.42٪ و 95٪. حساب محصول الزيوت الأساسية كل من *Mentha rotundifolia* ، *Mentha pulegium* ، *Satureja calamintha* ، *Thymus vulgaris* و *Schinus molle* على التوالي 1.70.1.77.1.86 ، 2.04 و 1.65٪. من أجل تحديد الجزيئات المسؤولة عن تأثير المبيدات الحيوية المتولدة على الحشرات بواسطة الزيت العطري من *Thymus vulgaris* ، تم إجراء تحليل بواسطة (MS / CPG) والذي أتاح تحديد 362 مركبًا بما في ذلك (36.61 Carcacrol) و (2.99% Gamma - Terpinene ، 3.08% Carvomenthone و 2.11% p-Cimene). وبالمثل ، كشف الفحص الكيميائي النباتي أن المستخلصات المائية غنية بما يلي: البوليفينول ، الفلافونويد ، التانينات ، التربينويدات ، الكينونات والأنثراكينون. ساعدتنا هذه النتائج في شرح إمكانات مبيدات الحشرات لنباتاتنا. أظهرت المكافحة البيولوجية باستخدام النباتات الطبية من جهة أن النباتات المختبرة لها خصائص مبيدات حشرية حيوية ملحوظة ، خاصة المسحوق والزيت المستخلصين من *M. rotundifolia* ، والتي سجلت معدلات وفيات بلغت (100٪). من ناحية أخرى عن طريق استخدام الحشرات *Beauveria bassiana* التي تسببت في ارتفاع معدلات الوفيات (100٪) بعد 98 سا. تمت دراسة طريقة أخرى للتحكم في سياق هذا الخط من البحث ، وهي التحكم المادي من خلال تعرض النوعين لدرجات حرارة مميته قصوى تتراوح بين (37 درجة مئوية و 50 درجة مئوية) ودرجات حرارة مميته دنيا متضمنة بين (0 درجة مئوية). و -4 درجة مئوية) لمدة يومين ، وقد أدت درجات الحرارة هذه إلى معدل وفيات بنسبة 100٪. من أجل استكمال نهج المكافحة المتكاملة الخاص بنا ، تم إجراء اختبار لمنهج اصطناعي (ثيازولين) بجرعة 2 ميكروغرام / مل ، وأظهرت النتائج معدلات وفيات بنسبة 100٪ في النوعين بعد 72 ساعة. اكتمل بحثنا. من خلال دراسة سمية أجريت على فئران ويستار لمدة 91 يومًا والتي أثبتت أن النباتات التي تم اختبارها كمبيدات حشرية حيوية لا تشكل أي خطر على صحة المستهلك بمجرد تطبيقها لحماية المواد الغذائية المخزنة ، بل إنها تتمتع بخصائص قوية مضادة للأكسدة وفقًا لنتائجنا.

الكلمات المفتاحية : القمح ، المبيدات الحيوية ، السلع المخزنة ، المكافحة المتكاملة للآفات ، *Sitophilus oryzae* ، السمية ، *Tribolium*

Beauveria bassiana ، *confusum*

LISTE DES FIGURES	Page
Figure 1 : Anatomie du grain de blé	5
Figure 2 : Production céréalière, utilisation et stocks (2010-2022)	6
Figure 3 : Morphologie de <i>Sitophilus oryzae</i>	10
Figure 4 : Adulte de <i>S. oryzae</i>	11
Figure 5 : Morphologie des différents stades de <i>Sitophilus oryzae</i>	13
Figure 6 : Dégâts causés par <i>Sitophilus oryzae</i>	14
Figure 7 : Morphologie externe de <i>Tribolium confusum</i>	15
Figure 8 : Adulte de <i>T. confusum</i>	15
Figure 9 : Morphologie des différents stades du <i>Tribolium confusum</i>	18
Figures 10 : Les dégâts causés par <i>Tribolium confusum</i>	19
Figures 10 : Les dégâts causés par <i>Tribolium confusum</i>	19
Figure 12 : Présentation de <i>Mentha rotundifolia</i> (A) et <i>Mentha pulegium</i> (B)	22
Figure 13 : Présentation de l'espèce <i>Satureja calamintha</i>	26
Figure 14 : <i>Thymus vulgaris</i>	28
Figure 15 : <i>Schinus molle</i>	29
Figure 16 : Morphologie de <i>Beauveria bassiana</i>	32
Figure 17 : Méthode d'accouplement chez <i>Tribolium confusum</i>	37
Figure 18 : Méthode d'accouplement chez <i>Sitophilus oryzae</i>	38
Figure 19 : les espèces amplifiées par PCR	41
Figure 20 : Mensuration des différents stades larvaires de <i>Tribolium confusum</i>	43
Figure 21 : Trous de pontes de <i>Sitophilus oryzae</i>	43
Figure 22 : Cycle de vie de <i>Sitophilus oryzae</i>	44
Figure 23 : Cycle de vie de <i>Tribolium confusum</i>	44
Figure : 24. Présentation de la région d'étude Localisation des et Prélèvements des plantes médicinales	51
Figure 25 : Chromatogramme GC/MS de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	59
Figure 26 : Pouvoir antioxydant des plantes médicinales	62
Figure 27 : Model du test de répulsion des huiles essentielles sur les deux insectes	65
Figures 28 : Effet bio insecticide par contact de <i>Mentha rotundifolia vis-à-vis de Tribolium confusum</i>	69
Figures 29 : Effet bio insecticide par contact de <i>Mentha rotundifolia vis-à-vis de Sitophilus oryzae</i>	69
Figures 30, 31 : Effet bio insecticide par contact de <i>Mentha pulegium vis-à-vis de Tribolium confusum et Sitophilus oryzae</i>	70
Figures 32, 33 : Effet bio insecticide par contact de <i>Satureja calamintha vis-à-vis de Tribolium confusum et Sitophilus oryzae</i>	70
Figures 34, 35 : Effet bio insecticide par contact de <i>Thymus vulgaris vis-à-vis de Tribolium confusum et Sitophilus oryzae</i>	71
Figures 36, 37 : Effet bio insecticide par contact de <i>Schinus molle vis-à-vis de Tribolium confusum et Sitophilus oryzae</i>	72
Figure 38 : Effet bio insecticide par contact des huiles essentielles vis-à-vis des nymphes de <i>Tribolium confusum</i>	72
Figures 39, 40 : Effet de la poudre de <i>M. rotundifolia vis-à-vis des adultes des deux insectes</i>	77
Figures 41, 42 : Effet de la poudre de <i>M. pulegium vis-à-vis des adultes des deux insectes</i>	78
Figures 43, 44 : Effet de la poudre de <i>S calamintha vis-à-vis des adultes des deux insectes</i>	78
Figures 45,46 : Effet de la poudre de <i>T. vulgaris vis-à-vis des adultes des deux insectes</i>	78
Figures 47, 48 : Effet de la poudre de <i>S. molle vis-à-vis des adultes des deux insectes</i>	79
Figure 49 : Effet de <i>Beauveria bassiana vis-à-vis les adultes de Sitophilus oryzae</i>	81

Figure 50: Effet de <i>Beauveria bassiana</i> vis-à-vis les adultes de <i>Tribolium confusum</i>	81
Figure 51: Effet de <i>Beauveria bassiana</i> vis-à-vis les larves de <i>Tribolium confusum</i>	83
Figure 52: Effet insecticide de Thiazoline vis-à-vis des adultes de <i>T. confusum</i>	85
Figure 53: Effet insecticide de Thiazoline vis-à-vis des adultes de <i>Sitophilus oryzae</i>	85
Figures 53,54 : Influence de la température minimale sur les deux insectes	87
Figures 55,56 : Influence de la température maximale sur les deux insectes	87
Figure 58: Effet des huiles essentielles sur la faculté germinative des grains	89
Figure 59. Injection intra péritonéale des animaux	92
Figure 60: Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau de la fois chez des souris traitées et témoins	106
Figure 61 : Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du rein chez des souris traitées et témoins	107
Figure.62 . Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du cerveau chez des souris traitées et témoins	108
Figure 63: Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du cœur chez des souris traitées et témoins	109

LISTE DES TABLEAUX	Page
Tableau 1: Les deux espèces du blé les plus utilisées	4
Tableau 2: Superficie moissonnée et production récoltée du blé tendre et dur	7
Tableau 3 : Méthodes de stockage des céréales	8
Tableau 4: Principaux ravageurs et microorganismes des denrées alimentaires stockées	9
Tableau 5 : Caractéristiques des différents stades de <i>Sitophilus oryzae</i>	12
Tableau 6 : Caractéristiques des différents stades de <i>Tribolium confusum</i>	17
Tableau 7: Classification botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> et <i>Mentha pulegium</i>	22
Tableau 8: Les principales caractéristiques morphologiques des deux espèces	23
Tableau 9: Composition chimique de <i>Mentha rotundifolia</i> et <i>Mentha pulegium</i>	24
Tableau 10 : Principales caractéristiques de <i>Satureja calamintha</i>	25
Tableau 11 : Composition chimique de <i>Satureja calamintha</i>	26
Tableau 12 : Caractéristiques de <i>Thymus vulgaris</i>	27
Tableau 13 : Composition chimique de <i>Thymus vulgaris</i>	28
Tableau 14: Principales caractéristiques morphologiques de <i>Schinus molle</i>	30
Tableau 15 : Composition chimiques de <i>Schinus molle</i>	30
Tableau 16: Paramètres bioécologique de <i>T. confusum</i> et <i>S. oryzae</i>	42
Tableau 17: les espèces des insectes inventoriées dans le blé	47
Tableau 18: Estimation du pourcentage d'attaque de <i>Sitophilus oryzae</i> et <i>Tribolium confusum</i>	48
Tableau19 : Présentation des plantes médicinales	51
Tableau 20: Screening phytochimique des extraits des plantes médicinales	54
Tableau 21 : Rendements en huile essentielle	56
Tableau22: Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	57
Tableau 23: Paramètres physicochimiques des huiles essentielles	58
Tableau 24 : Composition chimique de <i>Thymus vulgaris</i>	60
Tableau 25: Screening phytochimique des plantes médicinales	61
Tableau 26 : Concentration inhibitrice de 50% des huiles essentielles	62
Tableau 26 : Effet répulsif des huiles essentielles sur les adultes de <i>S oryzae</i> et <i>T confusum</i>	75
Tableau 27. Nombre d'insecte morts en fonction du temps (Moyennes \pm SE)	82
Tableau 28. Nombre des larves mortes en fonction du temps (Moyennes \pm SE)	83
Tableau 29: Solutions injectables utilisées.	92
Tableau. 30. Evolution du poids corporel des souris mâles et femelles traitées et non traitées par les huiles essentielles	98
Tableau 31 : Détermination du Glucose.	100
Tableau 32 : Détermination de la Créatinémie	100
Tableau 33: Détermination d'acide urique	101
Tableau 34 : Détermination d'urée	101
Tableau 35 Détermination d'albumine	101
Tableau 36. Détermination du cholestérol	102
Tableau 38. Détermination de Bilirubine totale	102
Tableau 39. Détermination de TGO	103
Tableau 40. Détermination de TGP	103
Tableau 41: Détermination des protéines totales	103
Tableau 42. Evolution du poids relatif des organes des souris traitées et non traitées par les huiles essentielles	105

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage
°c : Degré Celsius
µL : Microlitre
Abs: Absorbances
ADN : Acide Désoxyribo Nucleique
AFNOR : Association Française de Normalisation.
ANOVA : Analyse de la variance
ARN : Acide ribonu cleique.
Ccls : Cornée et lentilles de Contact Service.
CIC : Conseil international des céréales.
D.S.A: Direction des Services Agricole
D20 : Densité relative
DPPH: 2,2-Diphényle-1-1picrylhydrazyl
EA : Extrait aqueux
FAO: Food and Agriculture Organisation
Fe Cl3 : Chlorure de fer
H : humidité
Ha: Hectares
HCL: Chlorure d'hydrogène
HE : Huiles Essentielles
I.A: Indice d'Acide
IC50:Concentration Inhibitrice
Jr: Jour
L1:Premier stade larvaire
L1 : Premier stade larvaire
L2 :Deuxième stade larvaire
L3:Troisième stade larvaire
mg: Milligramme
min: Minute
ml : Millilitre
mm : Millimètre
NH4OH :Hydroxyde D'ammonium
nm: Nanomètre
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques
PA : Pourcentage d'attaque
PH: Potentiel d'hydrogène
PR% : Pourcentage de répulsion
Qx : Quintaux
Rd : Rendement en huile essentielle
S : Seconde
T : Température
TM: Taux de mortalité
UV: Ultra violet
Vit: Vitamine

TABLE DE MATIERE	
Résumé (Arabe, Français, et Anglais)	i
Liste des figures	ii
Liste des tableaux	iii
Liste des abreviations	iv
INTRODUCTION GENERALE	01
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	04
1. Présentation de la plante hôte « Blé »	04
1.1. Le blé	04
1.2. Position systématique du blé	04
1.3. Description morphologique du grain de blé	05
1.4. valeur alimentaire	05
1.5. Importance économique	06
1.5.1 Dans le monde	06
1.5.2. En Algérie	07
1.5.3. A Mascara	07
1.6. Le stockage des céréales	07
1.6.1 Types de stockage des céréales	08
1.7. Facteurs de détérioration du blé	08
2. Présentation des insectes étudiés	09
2.1. Présentation de <i>Sitophilus oryzae</i>	10
2.1.1. Caractéristiques de l'espèce	10
2.1.2. Position systématique	11
2.1.3. Espèces semblables	11
2.1.4. Origine et répartition	11
2.1.5. Description de l'espèce	11
2.1.6. Biologie	12
2.1.7. Régime alimentaire	13
2.1.8. Importance et dégâts	13
2.2. Présentation de <i>Tribolium confusum</i>	14
2.2.1. Caractéristiques de l'espèce	14
2.2.2. Position systématique	16
2.2.3. Espèces semblables	16

2.2.4. Origine et répartition	16
2.2.5. Description de l'espèce	17
2.2.6. Biologie	17
2.2.7. Régime alimentaire	17
2.2.8. Importance et dégâts	18
3. Moyens de lutte	19
3.1. La lutte préventive	19
3.2. La lutte curative	19
3.2.1. la lutte physique	20
3.2.2. la lutte biologique	20
4. Présentation des plantes médicinales étudiées	21
4.1. Présentation de la famille des lamiacées	21
4.1.1. Présentation de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Mentha rotundifolia</i>	21
4.1.1.1. Classification botanique de <i>Mentha rotundifolia</i> et <i>Mentha pulegium</i>	22
4.1.1.2. Principales Caractéristiques morphologiques	22
4.1.1.3. La composition chimique de <i>Mentha rotundifolia</i> et <i>Mentha pulegium</i>	23
4.1.2. Présentation de la plante : <i>Satureja calamintha</i>	24
4.1.2.1. Classification botanique de <i>Satureja calamintha</i>	24
4.1.2.2. Caractéristiques morphologiques et composition chimique de <i>Satureja calamintha</i>	25
4.1.2.3. Composition chimique	25
4.1.3. Présentation de <i>Thymus vulgaris</i>	26
4.1.3.1. Classification botanique	26
4.1.3.2. Les principales caractéristiques morphologiques de <i>Thymus vulgaris</i>	27
4.1.3.3. La composition chimique de <i>Thymus vulgaris</i>	27
4.2. Présentation de la famille des Anacardiacees	28
4.2.1. Présentation de <i>Schinus molle</i>	28
4.2.1.1. Classification botanique	29
4.2.1.2. Les caractéristiques morphologiques de <i>Schinus molle</i>	29
4.2.1.3. Composition chimique de <i>Schinus molle</i>	30
5. Présentation du champignon entomopathogène <i>Beauveria Bassiana</i>:	31
5.1. Généralités sur <i>Beauveria bassiana</i>	31
5.1.1. Morphologie	31
5.1.2. Classification	32

5.1.3. Mode d'action	33
5.2. Utilisation de <i>Beauveria bassiana</i>	34
CHAPITRE II : ETUDE BIOECOLOGIQUE ET IDENTIFICATION DES INSECTES ETUDIES	35
1. Introduction	37
2. Matériels et méthodes :	
2.1. Identification moléculaire des insectes	38
2.1.1. Extraction d'AND	38
2.1.2. Amplification par PCR	35
2.1.3. Préparation gel d'agarose 1%.	39
2.1.4. Analyses statistiques	40
2.2. Etude bioécologique de <i>Sitophilus oryzae</i> et de <i>Tribolium confusum</i>	
2.2.1. Elevage de masse des insectes	40
2.2.2. Dimorphisme sexuel	36
2.2.3. Accouplement	37
2.2.4. Etude de la longévité	38
2.2.5. Étude de la fécondité	38
2.2.6. Etude de la fertilité	38
2.2.7. Estimation du sexe ratio	39
2.2.8. Dénombrement des trous de ponte de <i>Sitophilus oryzae</i>	39
2.2.9. Etude de cycle de développement de <i>Tribolium confusum</i> et <i>Sitophilus oryzae</i>	39
2.3. Inventaire et évaluation des dégâts	39
2.3.1. Détermination du pourcentage d'attaque	40
3. Résultats et discussions	41
3.1. Identification moléculaire des insectes	41
3.2 Etude des paramètres bioécologiques des deux insectes	41
3.3. Inventaire des insectes du blé stocké	47
3.4. Evaluation des dégâts causés par <i>Tribolium confusum</i> et <i>Sitophilus oryzae</i>	48
Conclusion	49
CHAPITRE III : ETUDE PHYSICO CHIMIQUE DES PLANTES ETUDIEES	50
1. Introduction	50
2. Matériels et Méthodes :	50
2.1. Les critères de choix des plantes	50

2.2. Récolte et préparation du matériel végétal	50
2.3. L'extraction des huiles essentielles	51
2.4. Détermination du rendement	52
2.5. Etude analytique des huiles essentielles	52
2.5.1. Les caractéristiques organoleptiques	52
2.5.2. Les paramètres physico-chimiques	52
2.5.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/ MS)	53
2.6. Criblage phytochimique des plantes médicinales	53
2.6.1. Préparation des poudres végétales	53
2.6.2.. Préparation des extraits aqueux	54
2.7. Analyses pharmacologiques des huiles essentielles	54
2.7.1. Test de l'activité antioxydante	55
3. Résultats et Discussions	56
3.1. Les rendements obtenus	56
3.2. Caractéristiques organoleptiques	57
3.3. Paramètres physico-chimiques	57
3.4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG / SM)	58
3.5. Criblage phytochimique des plantes	60
3.6. Activité antioxydante	62
CHAPITRE VI : EVALUATION DE QUELQUES METHODES DE LUTTE	64
1. Introduction	64
2. Matériels et méthodes :	64
2.2. Lutte biologique par utilisation des plantes médicinales	64
2.2.1. Etude de l'effet insecticide des huiles essentielles	64
2.2.2. Etude de l'effet insecticide des poudres	66
2.3. Lutte biologique par utilisation d'un champignon entomopathogène	66
2.3.1. Préparation de l'inoculum	66
2.3.2. Application du champignon entomopathogène sur les deux insectes	66
2.4. La lutte chimique	67
2.5. La lutte physique par utilisation de la température	67
2.5.1. Les basses températures	67
2.5.2. Les hautes les températures	67
2.6. Etude de la faculté germinative des graines	68

2.7. Analyses statistiques	68
3. Résultats et Discussions	69
3.1. Lutte biologique par utilisation des plantes médicinales	69
3.1.1. Etude de l'effet insecticide des huiles essentielles	69
3.1.2. Etude de l'effet insecticide des poudres	76
3.2. Lutte biologique par utilisation de <i>Beauveria bassiana</i>	80
3.3. LA lutte chimique	84
3.3.1. Effet insecticide de Me-4, N-naphtyl-imino-2,N'-tolyl-3,delta-4 Thiazoline sur les adultes	84
3.4. La lutte physique	86
3.5. Effet des huiles essentielles sur la faculté germinative des grains de blé	89
Conclusion	90
CHAPITRE V: ETUDE TOXICOLOGIQUE	91
1. Introduction	91
2. Matériels Méthodes :	91
2.1. Matériel animal	91
2.2.1. Elevage des souris	91
2.1.2. Répartition des groupes	91
2.2. Préparations des solutions injectables	91
2.3. Eude de Toxicité chronique	92
2.4. Evaluation du poids corporel	92
2.5. Analyses biochimiques	93
2.5.1. Détermination de la fonction rénale	93
2.5.1.1. Détermination quantitative de créatine kinase (CK)	93
2.5.1.2. Détermination quantitative d'acide urique	93
2.5.1.3. Détermination quantitative d'urée	93
2.5.1.4. Détermination d'albumine	94
2.5.2. Détermination de la fonction hépatique	94
2.5.2.1. Détermination quantitative de bilirubine totale	94
2.5.2.2. Détermination quantitative d'aspartate amino transférase GOT (AST)	94
2.5.2.3 Détermination quantitative d'alanine amino transférase GPT (ALT)	95
2.5.3. Détermination de la fonction lipidique	95
2.5.3.1-Détermination quantitative de cholestérol	95
2.5.4. Détermination des protéines totales	95

2.5.5. Détermination du Glucose	95
2.5.6. Détermination quantitative de calcium	96
2.6. Etude histologique des organes (Anapathologie)	96
2.6.1. Prélèvement des organes	96
2.6.2. Etude macroscopique des organes	96
2.6.3. Réalisation des Coupes et étuvage	97
2.6.4. Etude microscopique	97
2.7. Analyses statistiques	97
3. Résultats et discussions	98
3.1. Comportement des animaux	98
3.2. Etude de l'évolution du poids corporel	98
3.3. Etude des paramètres biochimiques	99
3.3.1. Détermination du Glucose	99
3.3.2. Détermination de la fonction rénale	100
3.3.3. Détermination de la fonction lipidique	101
3.3.4. Détermination du Calcium	102
3.3.5. Détermination de la fonction hépatique	102
3.3.6. Détermination des protéines totales	103
3.4. Etude histopathologiques	105
3.4.1. Evaluation du poids relatif des organes prélevés	105
3.4.2. Examen anapathologique	105
Conclusion	109
CONCLUSION GENERALE	110
Références bibliographique	114
Production scientifique	i

Depuis la nuit des temps, les céréales notamment le blé sont devenu des produits de première nécessité à l'échelle mondiale, leur importance dépasse le rôle traditionnel considéré comme aliment. Ils présentent un rôle social, économique et politique dans la plupart des pays dans le monde (Ammar, 2014).

La production mondiale de céréale s'établit à présent à 2764 millions de tonnes en parallèle à celle du blé, elle devrait atteindre 783,8 millions de tonnes en 2022 soit encore 0,6 pour cent (4,5 millions de tonnes) de plus que les résultats de 2021 (FAO, 2022).

En Algérie, la consommation des produits céréaliers se situe à un niveau d'environ 205 kg / hab /an (Chehat, 2007). L'organisation onusienne prévoit aussi une augmentation des importations Algériennes de céréale essentiellement de blé qui devraient connaître une hausse de 25% par rapport à l'année passée et de 7% au-dessus de la moyenne durant la saison de commercialisation 2021/2022 (FAO, 2022).

Le regroupement des récoltes sous forme de stocks effectué depuis la haute antiquité crée un goulot d'étranglement entraînant des pertes quantitatives et qualitatives importantes (Sigaut, 1978). En effet, de nombreux bioagresseurs (rongeurs, virus, bactéries, champignons et surtout les insectes) sont à part entière la cause des pertes. Les pertes en poids occasionnées dans les stocks causés par les insectes peuvent être estimées à 35% de la production agricole mondiale (FAO, 2014). A l'échelle nationale, leurs dégâts sont à redouter car les conditions climatiques sont favorables à leur prolifération.

Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (Fleurat-Lessard, 1994). Parmi Les coléoptères on cite un ravageur primaire la calandre du riz *Sitophilus oryzae* qui est non seulement universellement considéré comme l'un des plus dévastateurs des céréales mais ouvre la porte à des ravageurs secondaires dont le ver brun de la farine *Tribolium confusum*.

La protection des céréales vis-à-vis de ces ravageurs des stocks est d'une grande importance pour la survie de l'homme. L'utilisation d'insecticide ou

fumigène de synthèse est l'une des méthodes de lutte la plus efficace, néanmoins de nombreux obstacles s'opposent au moment d'utilisation des produits chimiques à savoir : la recrudescence de la résistance chez ces ravageurs et les problèmes économiques (Leonard et Ngamo, 2004).

Il importe donc de rechercher de nouvelles stratégies alternatives de lutte pour venir à bout de ce fléau. A cet effet, de nombreux travaux se sont penchés sur la recherche de substances naturelles qui tout en étant aussi actives et disponibles elles sont douées d'une activité bio insecticide respectueuse de la santé humaine et de l'environnement (Righi, 2010 ; Benayad et *al.*, 2012; Karahacen, 2016; Righi et *al.*, 2017; Sehari, 2018; Kemassi et *al.*, 2019; Kibarak et *al.*, 2019; Sultan et *al.*, 2019; Baba-Aissa et *al.*, 2021).

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui a pour but d'apporter une contribution à ce volet de la recherche concernant la protection des denrées stockées par le choix de plusieurs méthodes de lutte naturelles et efficaces vis-à-vis de ces redoutables ravageurs.

De ce fait, notre étude s'organise comme suit :

Chapitre I : Etude bibliographique comprenant :

- Présentation de la plante hôte : Blé
- Présentation des insectes étudiés : *Sitophilus oryzae* ; *Tribolium confusum*
- Présentation des plantes médicinales utilisées : *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*.
- Présentation du champignon entomopathogène : *Beauveria bassiana*.

Chapitre II : Etude bioécologique des deux insectes comprenant :

- Identification moléculaire.
- Etude des paramètres bioécologiques.
- Estimation et évaluation des dégâts.

Chapitre III: Etude des plantes médicinales comprenant :

- L'extraction des huiles essentielles à partir des plantes médicinales et détermination de leur rendement.

- Détermination des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles.
- Détermination des paramètres physico-chimiques des huiles essentielles.
- Criblage phytochimique des poudres.
- Test de l'activité antioxydante.

Chapitre IV : Evaluation de Quelques Méthodes de Lutte comprenant :

- Lutte biologique par utilisation des plantes médicinales.
- Lutte biologique par utilisation d'un champignon entomopathogène.
- Lutte chimique par utilisation d'un produit chimique.
- Lutte physique par utilisation de la température

Chapitre V : Etude toxicologique comprenant :

- L'étude de la toxicité chronique par voie intra péritonéale.
- L'étude des paramètres biochimiques.
- L'étude histopathologique des organes.

A l'issue de cinq chapitres, la conclusion générale assemblera les principaux acquis de cette thèse et des perspectives de recherche.

CHAPITRE I

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

Présentation de la plante hôte : le blé
Présentation des insectes étudiés
Moyens de lutte
Présentation des plantes étudiées

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

1. Présentation de la plante hôte « le Blé »

A travers l'histoire le stockage des grains de céréale a fourni aux humains un amortisseur contre l'échec et la famine de récolte (Druvefors, 2004). L'évidence archéologique indique que le grain a été cultivé et stocké en vrac depuis 7.000 ans (Lee, 1960; Roberts, 1976). Les centres d'origine des espèces des céréales cultivées seraient : Le centre Ouest Chine pour le Millet, l'Asie Sud-Est pour le Seigle et le Riz, Le Moyen Orient pour le Blé dur, le Seigle, l'Avoine et l'Orge. La culture du blé dur est originaire d'Afrique du Nord et l'Italie (Parts et Clément, Grandcourt, 1971).

1.1. Le blé

Le blé reste après des millénaires la première plante cultivée au monde (Mosiniak et al., 2001). Il est considéré comme source de nourriture pour les populations humaines assurant 15% des besoins énergétiques (Bajji, 1999). Il est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climats arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise impasse. Ces régions se caractérisent par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations en plus de la désertification et la sécheresse (Abeledo et al., 2008). Il existe deux espèces de blé qui sont plus utilisées dans quelques régions du monde plus que d'autres (Tableau, 1).

Tableau 1: Les deux espèces du blé les plus utilisées (Cheftel, 1977; Duron, 1999).

Espèces	Blé tendre (<i>Triticum vulgare</i>)	Blé améliorant / blé dur (<i>Triticum durum</i>)
Utilisation	<ul style="list-style-type: none"> -L'espèce la plus cultivée. -Pour la fabrication de farine. -Destinée à l'alimentation humaine et animale - En biscuiterie et en pâtisserie. 	<ul style="list-style-type: none"> -Utilisée par les semouleries et les industries des pâtes alimentaires. -Pour en faire des aliments pour les animaux.

1.2. Position systématique du blé

Selon Naville (2005), la taxonomie du blé est établie comme suit :

Règne : Plantae

Classe : Angiospermes

Ordre : Monocotylédones

Famille : Poacées (Gramineae)

Tribu : Hordées

Genre : *Triticum*

1.3. Description morphologique du grain

Sur le plan morphologique, le grain de blé a une forme ovoïde de coloration blanchâtre à brunâtre avec un sillon sur la face ventrale, il est de taille de 6.5 à 8.5 mm de long et son diamètre de 3 à 4mm (Fredot, 2005) (Figure1). Ce sont les caractéristiques variétales qui varient en fonction des conditions culturales et la position du grain sur l'épi (Calderini et *al.*, 2000); Evers et Millar, 2002). C'est un fruit sec indéhiscent constitué d'une graine et de téguments. Le caryopse de blé est nu (les glumelles n'adhèrent pas le caryopse). Sur l'épi il est trouvé des glumes et des glumelles, lors du battage ils sont éliminés. (Feillet, 2000; Ferreira, 2011).

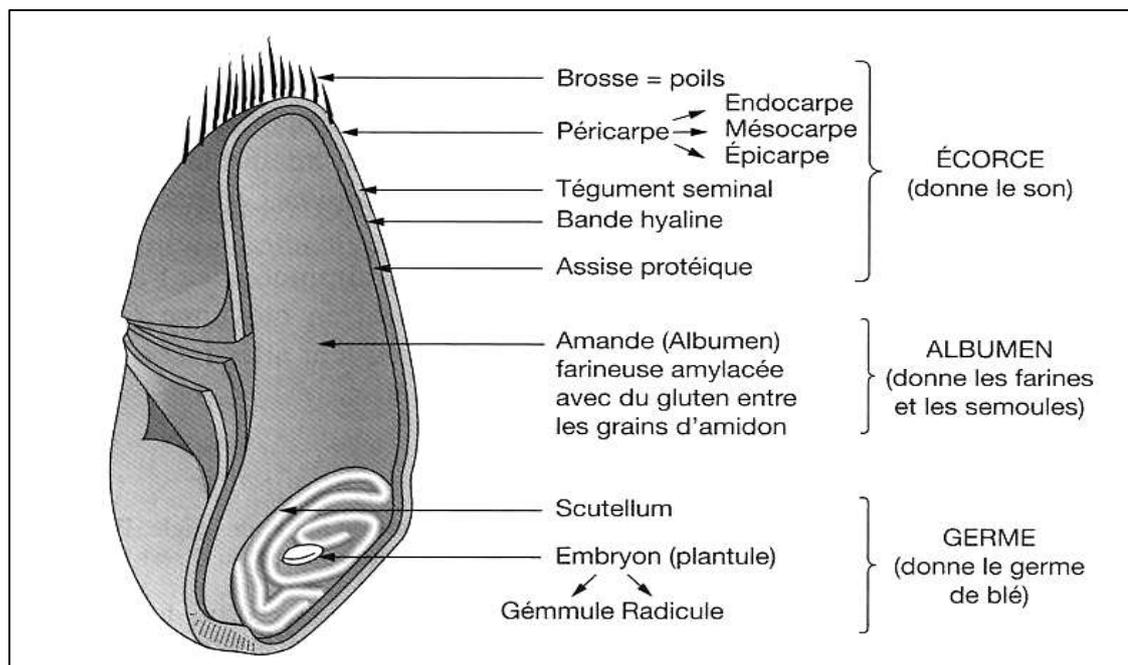


Figure 1 : Anatomie du grain de blé (Fredot, 2005)

1.4. Valeur alimentaire

Selon Cook et *al.*, (1991), deux tiers de la population mondiale dépendent du blé et du riz pour leur nourriture de base. Les avantages nutritionnels des céréales sont évidents : nature

complexe des glucides, source protéique intéressante, apport de micronutriments indispensables et présence de fibres alimentaires végétales. (Fredot, 2005; Leverve, 2007).

1.5. Importance économique

1.5.1. Dans le monde

La production mondiale de céréales en Décembre 2022 a été abaissée de 4,9 millions de tonnes par rapport au mois dernier et s'établissent à présent à 2 764 millions de tonnes, soit un recul de 1,8 pour cent (50,8 millions de tonnes) en glissement annuel. La plus grande partie de la baisse enregistrée ce mois-ci concerne le blé, tandis que les prévisions portant sur la production mondiale de céréales secondaires ont elles aussi été réduites, mais dans une moindre mesure. Compte tenu de l'ajustement à la baisse de 3,4 millions de tonnes apporté ce mois-ci, la production mondiale de blé devrait atteindre 7838 millions de tonnes en 2022 (Figure 2).

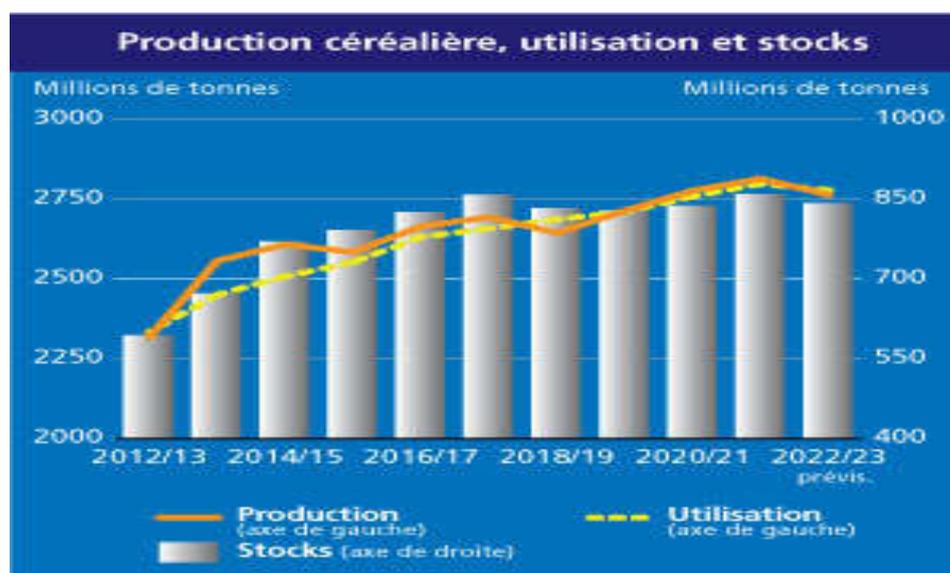


Figure 2: Production céréalière, utilisation et stocks (2010-2022) (FAO, 2022)

Toutefois, on estime toujours que la production de l'UE devrait progresser de 6% par rapport à l'année dernière et atteindre 133,3 millions de tonnes ce qui explique tout comme le globalement positives (FAO, 2021).

L'utilisation mondiale de blé pour la campagne de commercialisation 2021-2022 devrait augmenter fait que les perspectives soient favorables au Royaume-Uni, aux États-Unis d'Amérique et en Ukraine, que les perspectives concernant la production mondiale pour cette année soient de 0, 9% et atteindre 770 millions de tonnes, compte tenu de la croissance de la

consommation alimentaire et de l'utilisation industrielle attendue en glissement annuel (FAO, 2021).

1.5.2. En Algérie

Les céréales constituent l'épine dorsale et la base du modèle de consommation alimentaire Algérien, comme dans la plupart des pays méditerranéens (Bencharif et Rastoin , 2007). Elles fournissent plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire nationale (Feillet, 2000).

L'Algérie se situe au premier rang mondial pour la consommation des céréales. C'est le troisième pays importateur des céréales dans le monde après le Brésil et l'Égypte (Kellou, 2008).

Selon les statistiques de D.S.A (2020), les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. Durant la période 2015-2020, la superficie des céréales occupe en moyenne annuelle 50% de la superficie agricole utile (SAU). La production Algérienne de blé au cours de la campagne 2019/2020 est estimée à 3,95 millions de tonnes (USDA, 2020).

1.5.3. A Mascara

Les superficies moissonnées et les productions récoltées du blé tendre et dur durant la saison 2021-2022 sont représentées par le tableau 2.

Tableau 2: Superficie moissonnée et production récoltée du blé tendre et dur (DSA, 2021/2022).

Espèces	Blé dur		Blé tendre	
	Superficies moissonnées (ha)	Production récoltée (qx)	Superficies moissonnées (ha)	Production récoltée (qx)
Total des exploitations	26938,00	346000,00	10000,00	100 000,00

1.6. Le stockage des céréales

Les céréales constituent depuis toujours la principale ressource alimentaire de l'homme et des animaux domestiques c'est pourquoi la connaissance des phénomènes régissant leur conservation et la maîtrise des techniques de leur stockage est déterminante pour la survie de millions de personnes (Aidani, 2015). Le but des technologies de conservation et de préserver

par tous les moyens appropriés à l'intégrité des principales qualités des grains qui ne peuvent pas être améliorées pendant le stockage(Chawla, 1984; Multon,1982).

1.6.1. Types de stockage des céréales

Les différentes méthodes de stockage des céréales et leurs caractéristiques sont récapitulées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Méthodes de stockage des céréales.

Types de stockage	Silos	Sacs	Gerbes	Épis	En vrac
	<ul style="list-style-type: none"> -Permettent de stocker plusieurs types de céréales en même temps -Réduisent la main d'œuvre -Augmentent l'aire de stockage -Suppriment l'utilisation des sacs 	<ul style="list-style-type: none"> -Utilisées dans le cas de forte production et de saturation des divers locaux de grande capacité 	<ul style="list-style-type: none"> -Le grain est a l'abri de l'échauffement et du charançon. 	<ul style="list-style-type: none"> -Technique très répandue pour toutes sortes de céréales dans le monde 	<ul style="list-style-type: none"> -Les grains sont laissés à l'air libre dans des hangars ouverts.
Références	Doumandji et <i>al.</i> , (2003)		Multon, (1982)		Cruz et <i>al.</i> , (1989)

1.7. Facteurs de détérioration de blé

Les céréales sont sujettes à l'attaque de plusieurs bioagresseurs que ce soit végétaux ou animaux. (Tableau 4).

Tableau 4: Principaux ravageurs et microorganismes des denrées alimentaires stockées.

Bio agresseurs		Espèces	Références	
Ravageurs	Acariens	<i>Acarus siro</i> <i>Blomia tropicalis</i>	Aziez et al.,(2003)	
	Rongeurs	<i>Rattus rattus</i> <i>Apodemus sylvaticus</i>	Aziez et al., (2003)	
	Oiseaux	<i>Passer domesticus</i> <i>Columb alivia</i>	Djebari, (2005) Hammadache, (2013)	
	Insectes	Coléoptères	<i>Tribolium confusum</i> <i>Tribolium castaneum</i> <i>Sitophilus granarius</i> <i>Rhizopertha dominica</i>	Berhaut et al., (2003)
		Lépidoptères	<i>Sitotrogac erealella</i> <i>Plodiainter punctella</i>	
Champignons		<i>Tellitia fostida</i>	Laffont, (1985)	
Bactéries		<i>Pseudomonas syringae</i> <i>Xanthomonas campestris</i>	Djebari, (2005)	
Virus		<i>BSMV</i> (<i>Barley Stripe Mosaïc Virus</i>) <i>BYDV</i> (<i>Barley Yellow Dwarf f Virus</i>)	Hammadache, (2013)	

2. Présentation des insectes étudiés

Les coléoptères constituent l'ordre des insectes le plus diversifié du règne animal. Les espèces appartenant à la famille des curculionidés et des ténébrionidés sont cosmopolites dont certains nombres ont été signalées comme nuisibles sur les plantes cultivées et autres s'attaquant aux denrées alimentaires stockées ou emmagasinées. Selon leur capacité à attaquer les grains, elles sont réparties en deux groupes : Les ravageurs primaires qui s'attaquent à des grains intacts dont *Sitophilus oryzae* et les ravageurs secondaires, capables de s'attaquer aux

grains qu'à partir des ouvertures causées par les ravageurs primaires c'est le cas de *Tribolium confusum* (Bekon et Fleurat-Lessard, 1989).

2.1. Présentation de *Sitophilus oryzae*

2.1.1. Caractéristiques de l'espèce

Sitophilus oryzae est un insecte cosmopolite de couleur brun rouge, holométabole qui à une métamorphose complète. Il est muni des élytres qui sont caractérisés par quatre taches jaunes rougeâtres dures (Figure 3). La tête des calandres porte un bec allongé appelé rostre à l'extrémité de laquelle se trouve les pièces buccales (Lepsem, 1944). Les antennes sont coudées (Figure 4). Le cycle vital comporte quatre stades : œuf, larve, nymphe et adulte.

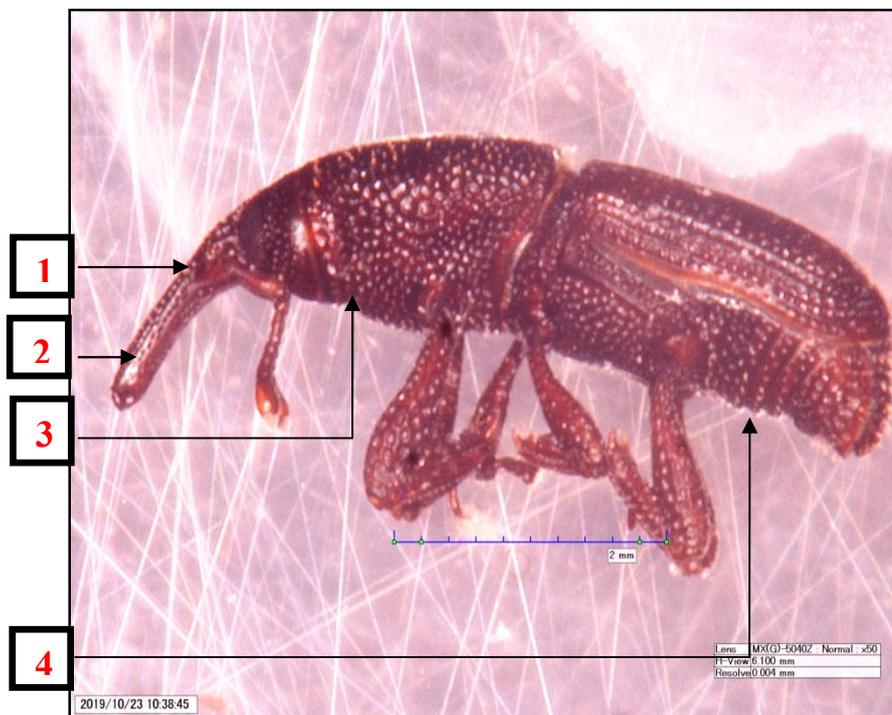


Figure 3 : Morphologie de *Sitophilus oryzae* (Originale, 2019)

1. Tête 2. Rostre 3. Thorax 4. Abdomen

S. oryzae est un charançon aux mœurs essentiellement nocturnes, se montre plus actif la nuit que le jour, ces déplacements sont relativement rapides et peut voler d'où leur rapide dissémination dans un entrepôt (Scotti, 1978).

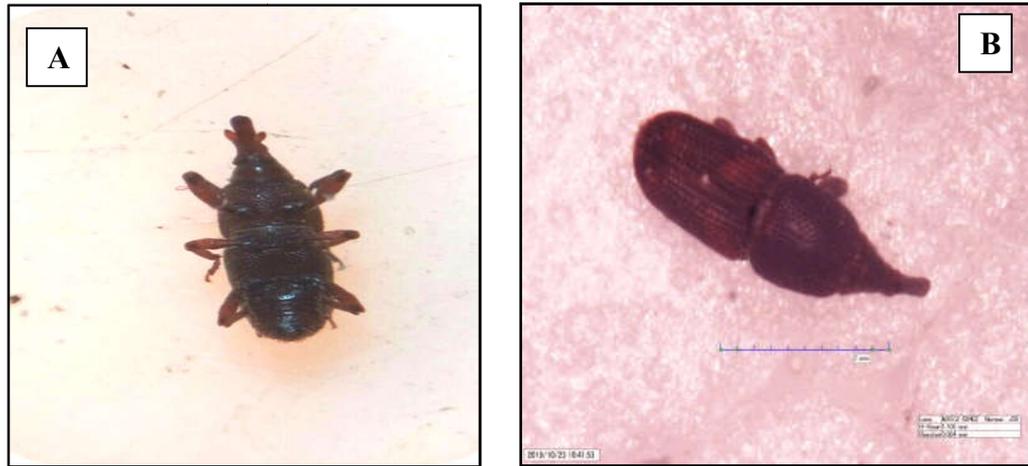


Figure 4 : Adulte de *S. oryzae* (Originale, 2019)

A : Vue ventrale

B : Vue dorsale

2.1.2. Position systématique

Lepsem (1944), rappelle que *Sitophilus oryzae* est classée comme suit :

Règne : Animalia

Embranchement: Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coléoptère

Famille : Curculionidae

Genre : *Sitophilus*

Espèce : *Sitophilus oryzae*.

2.1.3. Espèces semblables

- *Sitophilus granarius* (charançons du blé)
- *Sitophilus zeamais* (charançons du maïs)

2.1.4. Origine et répartition

Le *Sitophilus oryzae* est semblablement originaire de la région indienne. Dans les zones tropicales et subtropicales actuellement cet insecte est cosmopolite, il est souvent confondu avec le genre *Zea maïs*, espèce très voisine. (Codon et William, 1991).

2.1.5. Description

Les différentes caractéristiques des différents stades de l'insecte sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau 5), (Figure 5).

Tableau 5 : Caractéristiques des différents stades de *Sitophilus oryzae*

Espèces	Couleur	Forme	Type de surface (Mesure)	Taille	Références	
Stade	Œuf	blanche brillante	piriforme	Lisse recouverte d'une substance visqueuse	0,5-0,8 mm de longueur 0,2-0,3 de largeur	Steffan, (1978)
	Larve	blanche	Bombée tranche d'orange	/	2,5 à 3 mm de longueur	
	Nymphe	Blanche	Cylindrique	/	3,75 à 4 mm de longueur et 1,75mm de largeur	Cruz et al., (2016)
	Adulte	Brun rouge Marqué de taches	/	Rigide	2,5 à 4 mm	Steffan, (1978)

2.1.6. Biologie

Après l'accouplement, la femelle procède à l'inspection du grain, elle cherche un grain sain, elle ne pond jamais dans un grain déjà occupé (Paulian, 1988). Elle creuse une logette dans le grain à l'aide de son rostre pour y pondre ses œufs dont la largeur et la longueur dépasse celle de l'œuf. Dès qu'elle pond ses œufs, elle secrète un tampon mucilagineux pour recouvrir son trou de ponte. Au cours de sa vie, la femelle peut pondre jusqu'à 400 œufs.

Après l'éclosion la larve du 1^{er} stade creuse l'intérieur des grains et commence à se nourrir de ces derniers. Chez le *Sitophilus oryzae*, le nombre des stades larvaires varie entre 3 à 4 stades cela en fonction de la température et l'humidité. Le développement larvaire dure environ cinq semaines à trois mois selon la température environnante (Lepesme, 1944 ; Appert, 1992). Enfin de cycle larvaire, une loge plus grande est creusée par la larve du dernier stade L4 pour contenir la nymphe. A la fin de développement, l'adulte creuse son chemin hors de la graine par l'extrémité opposée au trou de ponte, les téguments brunissent progressivement au contact de l'air donnant au charançon sa couleur définitive (Lepesme,

1944; Steffan, 1978). La durée du cycle de développement est de 25 jours sous des conditions d'une température relative de 28°C et une hygrométrie de $70 \pm 5\%$ (Steffan, 1978).

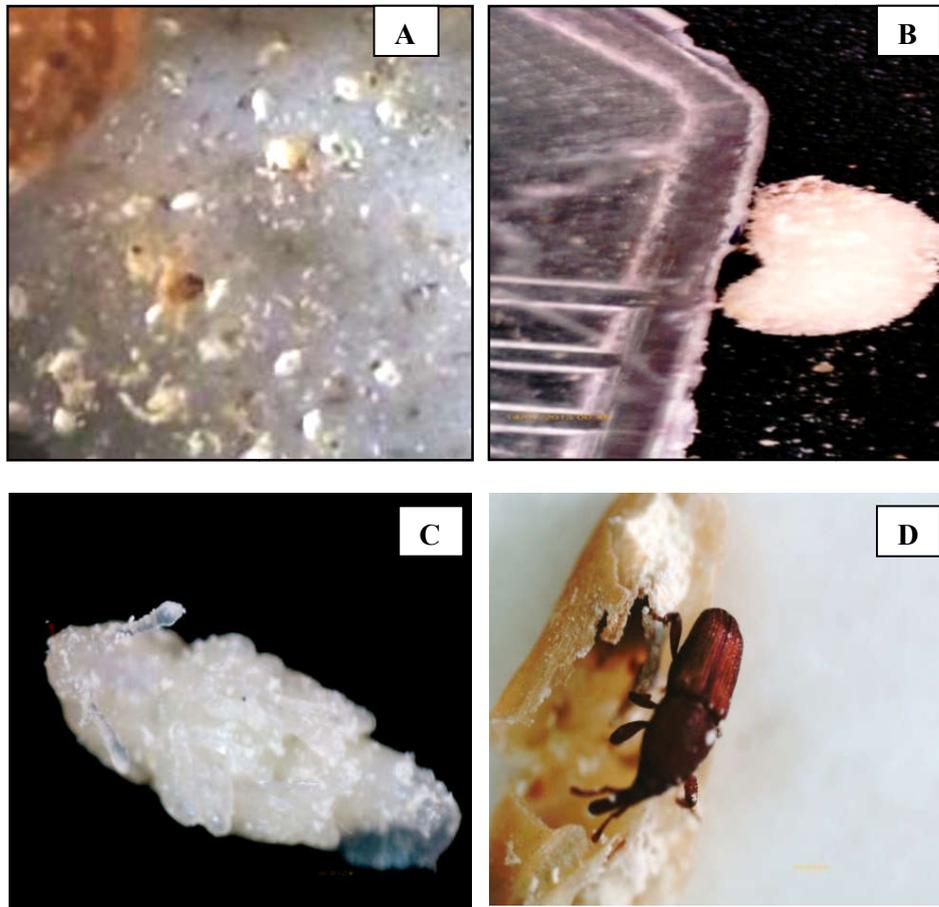


Figure 5: Morphologie des différents stades de *Sitophilus oryzae* (Originale, 2018) :

A: Œuf , B : Larve, C : Nympe, D: Imago

2.1.7. Régime alimentaire

Les *Sitophilus oryzae* sont des espèces cléthrophones, elles attaquent les grains, infestent le blé, orge, sorgho et le millet avec une préférence au Riz, elles sont très nuisibles aux produits céréaliers.

2.1.8. Importance et dégâts

Les préjudices sont causés par les adultes de *S oryzae* qui ont la capacité de détruire le germe et même l'albumen des grains entreposés ce qui inflige par conséquent l'installation d'autres ravageurs secondaires qui parachèvent leurs dégâts, aussi les larves vident les grains. En effet, au cours de son développement une larve peut vider presque un grain de blé sans

altération de l'enveloppe (Lepigre, 1951). En sa qualité de nuisible primaire, le charançon du riz présente un risque d'infestation de 80% en moyenne sur le blé et le riz et ce à l'échelle mondiale (Codon et Wiliam, 1991).

Il s'agit d'un ravageur dévastateur des céréales dans les quelles des pertes en poids ainsi qu'une détérioration de la qualité ont été estimées. En effet le développement d'un charançon dans un grain réduit sa masse d'environ 35 à 40% (Cruz et *al.*, 2016).

Les larves de *Sitophilus oryzae* vivent logées à l'intérieur du grain pendant leurs développement donc le dégât principal est engendré par la larve (Figure 6).



Figure 6: Dégâts causés par *Sitophilus oryzae* (Originale, 2018)

2.2. Présentation de *Tribolium confusum*

2.2.1. Caractéristiques de l'espèce

Comme tous les coléoptères, *Tribolium confusum* est un insecte holométabole qui a une métamorphose complète sont corps plat et allongé est de couleur brun rougeâtre brillant.

Il possède des antennes équipées en extrémité de massues distinctes à 3 articles avec crête absente au-dessus de chaque œil (Figure 7 et 8).

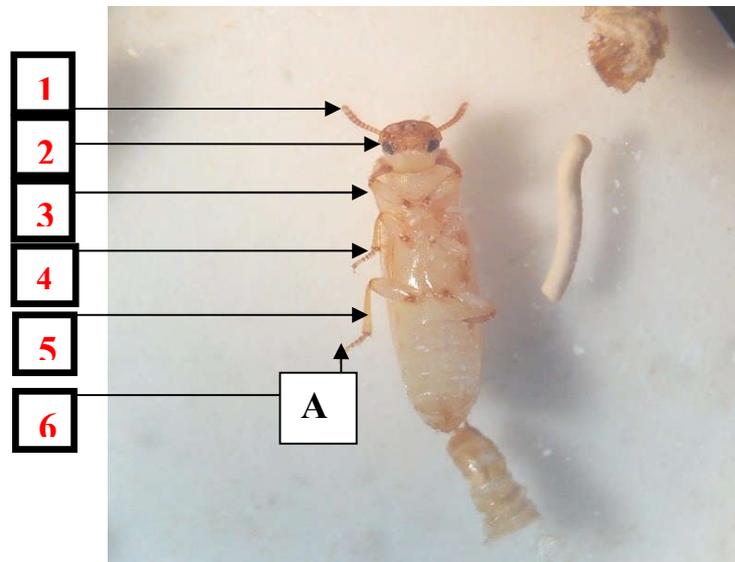


Figure 7 : Morphologie externe de *Tribolium confusum* (Originale, 2019)
1. Antennes, 2. Œil composé, 3. Prosternum, 4. Mesosternum, 5. Métasternum, 6. Tibia.



Figure 8 : Adulte de *T. confusum* (Originale, 2019)
A : Vue dorsale B : Vue ventrale

Le ver brin est muni d'ailes antérieures dures se rejoignant le long de la ligne centrale de la surface dorsale, les ailes postérieures membraneuses quelquefois sont absentes ainsi que des pièces buccales broyeuses. Il est caractérisé par quatre stades de développement : œuf,

larve, nymphe et adulte. Il se trouve partout dans le monde mais son nom commun varie d'un pays à l'autre :

- Confused flour beetle, Mason beetle en Anglais,
- Le ver brin de la farine(Delobel et Trans, 1993).
- Tribolio confuso, Escarabajo americano de la harina en espagnol.

2.2.2. Position systématique

Selon Gretia (2009), *T. confusum* occupe la position systématique suivante :

Règne : Animale

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coleoptera

S/Ordre: Polyphaga

Famille : Tenebrionidae

S/Famille : Ulominae.

Genre : *Tribolium*

Espèce: *Tribolium confusum*

Nom français : Tribolium brun de la farine

Nom anglais: Confused Flour Beetle.

2.2.3. Espèces semblables

- Tribolium rouge de la farine (*Tribolium castaneum*)
- Tribolium noir d'Europe (*Tribolium madens*)
- Tribolium noir d'Afrique (*Tribolium audax*)
- Ténébrion olifant (*Gnatocerus cornutus*)
- Tenebrion du riz (*Latheticus oryzae*).

2.2.4. Origine et répartition

T. confusum est une espèce d'origine indo-australienne (Smith et Whitman, 1992), elle a été transportée par l'homme avec des produits nourriciers et se rencontre maintenant dans le monde entier par suite de sa plus grande résistance aux baisses températures, cette espèce se rencontre à des latitudes plus septentrionales que d'autres espèces du même genre (Jurgen et al., 1981).

2.2.5. Description

Le tableau 6 décrit les différentes caractéristiques des différents stades de l'espèce *Tribolium confusum* selon plusieurs auteurs.

Tableau 6 : Caractéristiques des différents stades de *Tribolium confusum*

Espèce	Couleur	Forme	Type de surface	Mesure	Références	
Stades	Œuf	Blanche transparente	Piriforme	Lisse recouverte d'une substance visqueuse	0,6*0,3mm	Shepard, (1940)
	Larve	Blanche	Vermiforme	Pourvue de quelques poiles	7mm de longueur et 0.8mm de largeur	Stefan, (1978)
	Nymphe	Blanche	Cylindrique	Nue		Delobel et Tran , (1993)
	Imago	d'un blanc jaunâtre qui se pigmente devient brun rouge		Rigide	3 à 4 mm	Steffan ,(1978)

2.2.6. Biologie

Après l'accouplement, les œufs sont pondus soit séparément et parfois en amas à l'intérieur des grains déjà contaminés par d'autres ravageurs primaires ou bien à la surface des substrats infestés. Au cours de sa vie la femelle peut pondre environ 450 œufs, qui sont petits et blancs clair. Il ne faut que 5 à 12 jours aux œufs pour éclore. Une fois qu'elles éclosent, les larves commencent à se développer afin de se transformer en nymphe. Le nombre de mue larvaire varie de 5 à 12 selon les conditions optimales de température et d'humidité (Figure 9).

2.2.7. Régime alimentaire

Il s'agit d'une espèce nuisible polyphage, signalée sur environ 200 produits y compris les épices, le chocolat, les fruits séchés et les produits céréaliers les grains, les flocons

d'avoine et le son (Balachowsky et Mensil,1936). Elle recherche des amylacées tels que la farine et même les os et les autres produits d'origine animale (Lepesme,1944).

D'après Stefan (1978), ce sont des cléthrophages secondaires car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures, elles attaquent les grains endommagés escortent souvent les charançons ou parachèvent leurs dégâts. Parfois les larves et les adultes sont cannibales et se nourrissent de leurs propres œufs et nymphes, elles sont capables aussi de se développer sur certain nombre de moisissures.

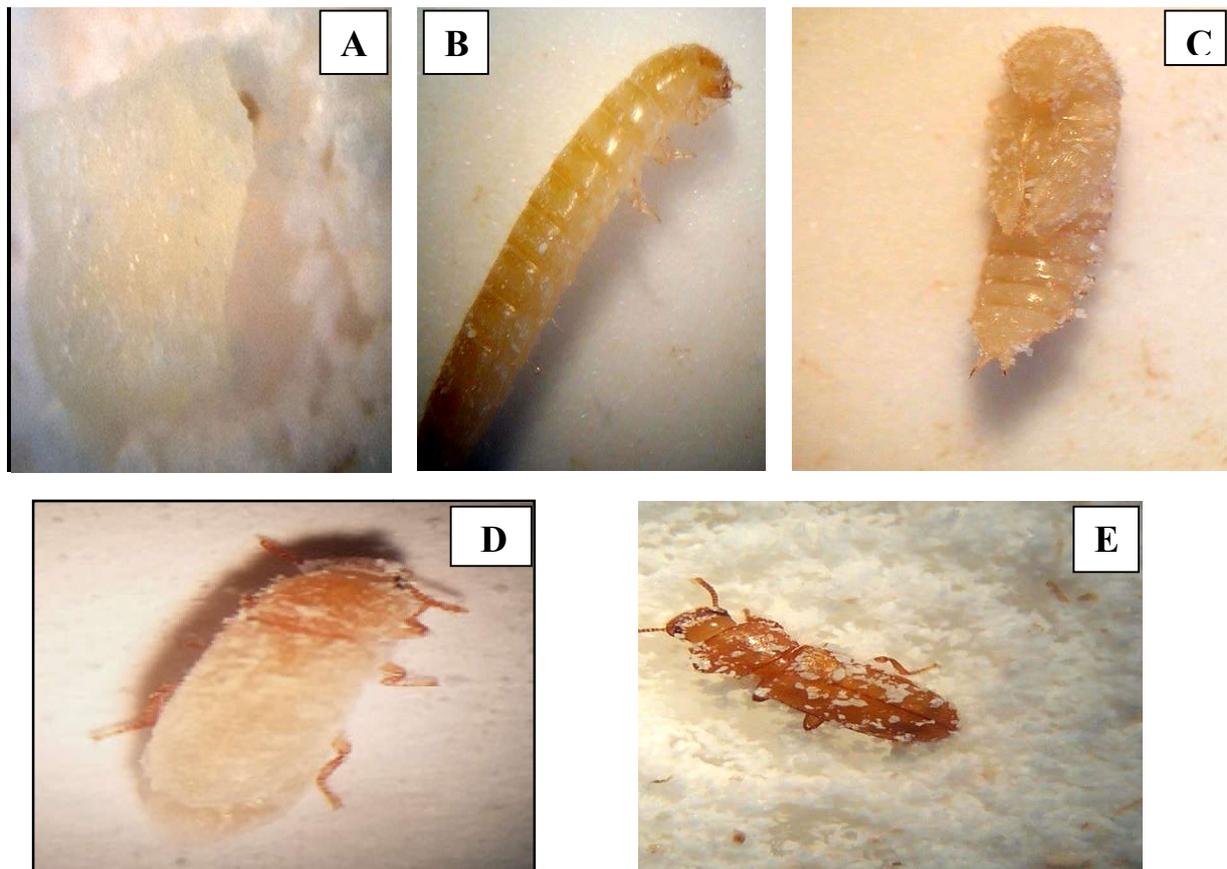


Figure 9 : Morphologie des différents stades du *Tribolium confusum* (Originale, 2019)

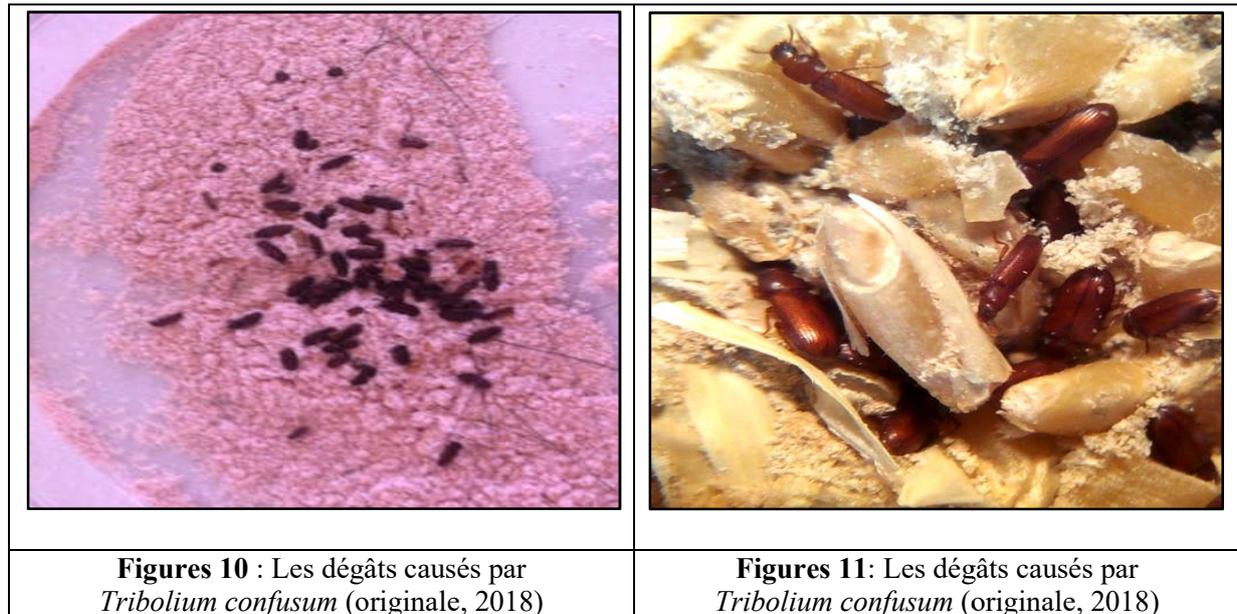
A: Œuf B: Larve C: Nympe D: Imago E: Adulte

2.2.8. Importance et dégâts

C'est au stade adulte et larvaire que le ver brun de la farine occasionne des dégâts sur les différentes denrées. Les pertes en poids occasionnées ainsi que la faculté germinative des grains dans les stocks peuvent être estimées à 35% de la production agricole mondiale (FAO, 2016). Au moment de leurs déplacements les insectes creusent des galeries sur les substrats qu'ils infestent, ils sécrètent une substance nauséabonde, riche en quinones qui communique

au lot infesté une odeur particulièrement désagréable et qui rend les produits de meunerie infestés impropres à la consommation. (Figures 10, 11).

Ce sont des insectes qui exploitent les plus petites fissures ce qui constitue un problème particulier dans les équipements où des céréales et d'autres résidus alimentaires s'accumulent. En outre des pertes indirectes qui peuvent être engendrées par l'invasion des microorganismes à cause des orifices laissés par les adultes après l'émergence



3. Moyens de lutte

Il existe plusieurs méthodes qui permettent de maintenir les populations des ravageurs à un niveau assez bas pour que les dégâts occasionnés soient économiquement tolérables.

Différentes mesures prophylactiques tel que le séchage des céréales avant le stockage, le respect des conditions d'entreposage sont maintenus (Kasambala et Hendry, 1986).

3.1. Lutte préventive

Elle consiste en une hygiène rigoureuse des moyens de transport, des locaux de stockage, des installations de manutention et des machines de récolte.

3.2. Lutte curative

La méthode la plus fréquemment utilisée pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées est la lutte chimique qui utilise souvent des fumigants notamment le bromure de méthyle et le phosphore d'hydrogène (Lorini, 1998). L'intérêt de leur emploi est lié à leur

diffusion à l'intérieur des grains pouvant atteindre des formes cachées des ravageurs tels que les larves et les œufs et les nymphes (Kellouche, 2005).

3.2.1. La lutte physique

C'est un autre moyen pour lutter contre les ravageurs des denrées stockés, elle comprend l'emploi du froid, de la chaleur, de la radiation infra et ultra son, les ultraviolets et les rayons gamma (Southgate, 1983).

- **Le froid :** Le froid peut être employé pour la conservation des récoltes (Sinha et Watters, 1985). Les denrées stockées ne sont également pas infestées si la température de conservation est inférieure à 12°C.
- **La chaleur :** Constitue également un moyen de lutte non négligeable pratiqué pour la première fois en Etats unis. Par simple sur chauffage elle provoque le séchage du grain et la destruction d'une certaine quantité d'insecte. D'après Fleurat-leussard, (1978) et Scotti, (1978) toutes les formes de ravageurs des denrées stockées se trouvant dans une masse de grain sont éliminées après 10 minutes d'exposition à une température de 60°C sans aucune conséquence ni sur le pouvoir germinatif ni sur la qualité boulangère des grains, mais leur degré d'humidité diminue.

3.2.2. La lutte biologique

- **Les ennemis naturels :** Certains arthropodes particulièrement les acariens tels que : *Pediculoides ventricosus* Nemp. ; *Acarophenax tribolu* Nemp et Duval tendent à limiter l'activité de *Tribolium*, deux hyménoptère de la famille des Bethylides parasitant les larves sont: *Rhabdepyriszea* Turu et Waterst et *Slerodermaim migrans*, Bridw. (Hitman, 1992). A côté des ennemis naturels s'ajoutent les microorganismes telque les champignons et les bactéries.
- **les plantes :** L'utilisation des molécules naturelles des plantes en tant que bio pesticides dans la protection des grains permet de limiter la toxicité des insecticides d'origines chimiques, ils se présentent sous plusieurs formes : extraits aqueux (Gwinner et al., 1996 ; Aouinty et al., 2006), extraits organiques (Regnault-Roger et al., 1993), huiles végétales (Kellouche, 2005) ainsi que les huiles essentiels et les poudres végétales utilisées par plusieurs chercheurs .

4. Présentation des plantes médicinales étudiées

La position géographique de l'Algérie lui confère une richesse floristique incontestable qui intéresse de plus en plus les chercheurs. La curiosité de la possibilité d'identification des particularités et vertus de chaque plante guide notre intérêt croissant pour une meilleure valorisation de toute espèce végétale utilisée dans tous les domaines et en particulier le domaine de la phytothérapie.

4.1. Présentation de la famille des Lamiaceae

La famille des lamiacées ou labiées du Latin (Labiata) : lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Naghibi et *al.*, 2005) est une famille d'une grande importance dans la flore Algérienne et même comme l'une des principales familles méditerranéennes à essences (Guignard, 1996). Elle comprend environ 258 genres et 6970 espèces (Botineau, 2010). C'est l'une des premières à être distinguée par les botanistes et ceci par la particularité de ses caractères (arbuste, sous arbrisseau ou plante herbacées en général odorante, à tige quadrangulaire) (Messali, 2005). Elle renferme de nombreuses plantes dont le genre *Mentha*, *Thymus* et *Satureja* exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation. La plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (Judd et *al.*, 2002). Elles font l'objet de ce présent travail.

4.1.1. *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*

L'espèce *Mentha pulegium* fait partie du genre *Mentha*, appelée «la menthe de pouliot» le nom pouliot vient du latin Psilegium qui dérive de pulex (la puce qui signifie la plante qui a la propriété insecticide vis-à-vis les puces) (Ganissans et Jeamnoumnd, 1993). Cette plante pousse à l'état spontané, elle est pluriannuelle, robuste et fréquente les lieux humides (Bencheikh, 2012). La menthe de pouliot se caractérise par une odeur intense et une saveur fortement aromatique (Figure 12(B)).

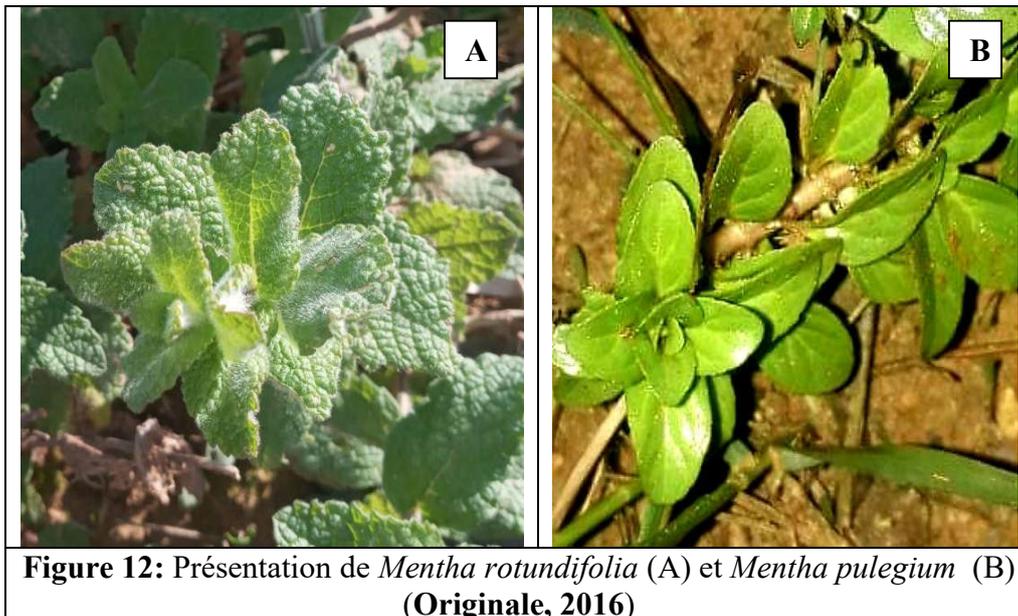
L'espèce *Mentha rotundifolia* est l'une des plantes les plus répandues dans l'aire méditerranéenne appartenant à la famille des lamiacées et au genre *Mentha*. Elle est considérée aujourd'hui comme un hybride *M. longifolia* x *M. suaveolens* (Lawrence, 2007). En Algérie cette plante pousse spontanément et exhale une odeur aromatique très forte (Figure 12(A)).

4.1.1.1. Classification botanique

La classification botanique des deux espèces du genre *Mentha* est représentée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7: Classification botanique de *Mentha rotundifolia* et *Mentha pulegium*

Classification	<i>Mentha rotundifolia</i>	<i>Mentha pulegium</i>
Embranchement	Spermaphytes	Spermaphytes B
Sous-embranchement	Angiospermes	Angiospermes
Classe	Eudicots	Eudicots
Ordre	Lamiales	Lamiales
Famille	Lamiacées	Lamiacées
Genre	<i>Mentha</i>	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha rotundifolia</i>	<i>Mentha pulegium</i>
Références	Dupont et Guignard, (2007)	Quzel et Santa, (1963)



4.1.1.2. Principales caractéristiques morphologiques

Les principales caractéristiques des deux espèces sont représentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 8).

Tableau 8: Les principales caractéristiques morphologiques des deux espèces

Espèces	Nom vernaculaire	Description botanique		Usage pharmacologique	Références
<i>Mentha rotundifolia</i>	-Domrane -Chachtro -Timijo -Timerset -Menthe Odorant -Menthe simple	Feuilles	-Opposées -Sessiles -Ovales -Triangulaires -Dentés à la marge. -Surface rugueuse.	-Tonique -Stimulante -Stomachique -Carminative -Analgésique -Antispasmodique -Anti inflammatoire -Antiémétiques -Hypotensive - Insecticide.	Moreno et <i>al.</i> , (2002) Ladjel et <i>al.</i> , (2011) Eberhard et <i>al.</i> , (2005)
		Tige	Dégage de forte odeur caractéristique		
		Hauteur	25 a 80cm, la fleur est de 5mm de long.		
		Flours	Divisée en 5 dents triangulaires Inflorescence		
<i>Mentha pulegium</i>	Pouliot Feliou Felgou Moursal	Feuilles	-Opposées -Petites -Ovales -Munies d'un court pétiole	-Antalgique -Antispasmodique -Rétablit les troubles gastriques - Insecticide -Rhume toux -Grippe	Kebissi, (2004) Bremness, (2001) Hyerisam, (2013)
		Tige	Dressée à section carré Verdâtre ou grisâtre		
		Hauteur	30-40cm		
		Flours	Rose parfois blanches Groupées en glomérules		

4.1.1.3. Composition chimique

Les principaux composés chimiques des deux plantes sont représentés par le tableau suivant :

Tableau 9: Composition chimique de *Mentha rotundifolia* et *Mentha pulegium*

Plantes	Compositions chimiques		Références
<i>Mentha pulegium</i>	Alcools	Esteres	Bouchra et al., (2003)
	Néomenthol 0-1,4%	Acetate de néoisomenthyle 0-2.5%	Beghidja et al., (2007) Agnihotri et al., (2005)
	Pulégone	Cétones	Lorenzo et al., (2002)
	-80,3% Au Maroc -70-90% en Algérie -65,9-83,1% en Inde -43,5% En Egypte	Menthone 0,1-30,8% Iso- Menthone 1,9-25,4%	El-ghorab, (2006) Kokkini et al., (2002)
	Pipériténone		
	83.7-97.2 % en Grèce		
<i>Mentha rotundifolia</i>	Menthone 3,34% Pulegone 17,61% Piperitone 9,18		Benayed, (2008)

4.1.2. Présentation de *Satureja calamintha*

Dans certaines régions du monde, la plante *Satureja calamintha* a été utilisée en médecine traditionnelle pour un large éventail d'action, elle représente l'une des plantes médicinales connues et utilisées par l'homme. Le genre *Satureja* appartient à la famille des Lamiacées (Ayla et al., 2009).

Le nom *Satureja* vient du mot latin : Saturare = nourrir ou satura = pot a fleur ornemental. il existe plusieurs espèces tous sont remarquables par leur odeur forte et aromatique qui rappelle celle de la menthe (Varban et al., 2009). Cette plante se distribue dans le pourtour méditerranéen et se développe dans des régions arides, chaudes et rocheuses (Slavkovska et al., 2001). (Figure 13).

4.1.2.1. Classification botanique

Selon Quezel et Santa (1963), *Satureja calamintha* est classée comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Sous classe: Gamopétales

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: *Satureja*

Espèce: *Satureja calamintha*

4.1.2.2. Caractéristiques morphologiques

Les principales caractéristiques de cette espèce sont regroupées dans le tableau (10)

Tableau 10 : Principales caractéristiques de *Satureja calamintha*

Espèce	Nom vernaculaire	Morphologie		Usage thérapeutique	Références
<i>Satureja calamintha</i>	-Nabta	Feuilles	opposées	-Flatulence, l'indigestion.	Baba Aissa, (2000) Lamendin, (2007) Speck et al., (2008) Kerbouche et al., (2013)
	-ketéya		à pétioles moyens	-Infections respiratoires bénignes.	
	-Sarriette		dentelés	-Contre la toux et le rhume	
	-Baume sauvage	Tiges	molles et velues	- Préconisée pour les cas d'infections= des vois respiratoire.	
-Pouliot de montagne		Hauteur	40cm	-Favorise la sudation	
		Fleur	Sur un pédoncule commun par deux ou trois	-Baisse la fièvre. -Toniques. -Antispasmodique.	

4.1.2.3. Composition chimique

Le tableau 11, récapitule les principaux composants de *S calamintha* avec la dominance du Borneol (34, 52 %),

Tableau 11 : Composition chimique de *Satureja calamintha*

Espèce	Composition chimique	Références
<i>Satureja calamintha</i>	-Borneol (34, 52 %), - α -campholenicaldéhyde (14, 26 %), -Cedren-13-ol (6, 45 %), -Manoyloxyde (3,78%)	Ech-chahad et <i>al.</i> , (2013)

**Figure 13** : Présentation de l'espèce *Satureja calamintha* (Maarouf, 2021)

4.1.3. Présentation de *Thymus vulgaris*

La plante constitue un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. C'est une excellente plante médicinale qui possède des vertus médicinales. Le nom « Thymus » dérive du mot grec « Thymos » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente ,2001). (Figure 14).

4.1.3.1. Classification botanique

Selon Morales (2002), la classification du Thym est présentée comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement: Spermaphytes

Sous-embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Sous classe: Gamopétales

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre: *Thymus*

Espèce : *Thymus vulgaris*

4.1.3.2. Principales caractéristiques morphologiques

Les principales caractéristiques morphologiques de *Thymus vulgaris* sont représentées dans les tableaux ci – dessous :

Tableau 12 : Caractéristiques de *Thymus vulgaris*

Espèce	Nom vernaculaire	Morphologie		Usage thérapeutique	Références
<i>Thymus vulgaris</i>	Zaateur	Hauteur	20-30cm	-Antiparasite -Antispasmodique -Cicatrisation des plaies.	Prasanth et al., (2014)
	Zaatar	Tiges	dressées, ligneuses, rameuses tortueuses		
	Zaitra	Feuilles	subsessiles opposées, oblongues couleur vert grisâtre		
		Branches	minces, denses, ramifiées, blanchâtres		

4.1.3.3. La composition chimique de *Thymus vulgaris*

Les principaux composés chimiques tels que le Thymol, le Carvacrol et le Linalool sont consignés dans le tableau (13).

Tableau 13 : Composition chimique de *Thymus vulgaris*

Espèce	Composition chimique		Références
<i>Thymus vulgaris</i>	Phénols (20-80%)	Thymol (30-70%)	Abdelli, (2017)
		Carvacrol (3-15%)	
	Alcools	Linalool (4-6,5%),a-terpinéol (7,8-8,9%)	



Figure 14 : *Thymus vulgaris* (Originale ,2017).

4.2. Présentation de la famille des Anacardiacees

Les anacardiacees aussi appelés Térébinthacées représentent une grande famille de plantes dicotylédones qui possède un nombre important de plantes (60 genres et 500 espèces) dans la classification botanique, habitant les contrées chaudes et tempérées du globe (Gaston, 1990).

4.2.1. Présentation de *Schinus molle*

Schinus molle ou Faux poivrier est un petit arbre originaire de l'Amérique du sud avec des feuilles minces et longues (Kasimala, 2012). Du latin "*Schinos*" lentisque produisant un suc semblable à sa résine, et *mollis*, "Velu". En Algérie, cette plante est utilisée comme arbre

de verdissement urbain dans tout le pays à cause de L'élégance de son feuillage et de ses longues panicules de fruits (Rouibi et *al.*, 2010). (Figure 15)



4.2.1.1. Classification botanique

Dupont et Guignard (2007), rappellent que la classification du faux poivrier est comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous-classe : Eurosidées II

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiacees

Genre : *Schinus*

Espèce : *Schinus molle*.

4.2.1.2. Les caractéristiques morphologiques de *Schinus molle*

Les principales caractéristiques du faux poivrier sont regroupées dans le tableau (14).

Tableau 14: Principales caractéristiques morphologiques de *Schinus molle*

Espèce	Nom vernaculaire	Morphologie		Usage thérapeutique	Références
<i>Schinus molle</i>	-Felfel	Feuilles	vertes	Antihémorragique	Somon, (1987) Taylor, (2005) Ruffa et al.,(2002)
	-Rafiaa		composées	Antiseptique	
	-El Awrak	paripennées	-Laxatif		
	-Faux poivrier	Fleurs	jaunes	-Cardiotonique	
-Poivrier		verdâtres	panicules	-Stimulant digestif	
d'Amérique		lâches		-Diurétique	
		Hauteur	5 à 10 m	-Stimulant menstruel	
		Fruits	pisciformes.	Antidépresseur	
			Roses		
			abondants		
			ornementaux		

4.2.1.3. Composition chimique de *Schinus molle*

Le composé majoritaire du faux poivrier est essentiellement le α -phellandrène (26,7%) suivi des autres composants comme c'est indiqué dans le tableau 15.

Tableau 15 : Composition chimiques de *Schinus molle*

Espèce	Composition chimique	Références
<i>Schinus molle</i>	α -phellandrène(26,7) β -phellandrène(9,5) limonène (9,7) β -élémol (10,2) β -eudesmol (9,0) α -eudesmol (6,8) ; α -phellandrène (6,2)	Seladiji, (2014)

5. Présentation du champignon entomopathogène *Beauveria Bassiana* Vuillemin, 1912

Les champignons entomopathogènes sont des agents pathogènes qui provoquent des maladies chez les insectes, ceux qui s'attaquent à des ravageurs présentent donc un intérêt pour la lutte biologique surtout en raison du caractère épidémique de leurs attaques, (Lydie, 2010). Il s'agit des eucaryotes avec des noyaux, des organites bien définis et une paroi cellulaire chitineuse. Ils se présentent souvent sous forme d'hyphes constituant le mycélium et rarement sous forme de cellules individuelles (Humber, 1997; Tzean et al., 1997). Plusieurs entomopathogènes étaient étudiés afin d'évaluer leur potentiel insecticide pour lutter contre les insectes ravageurs. Plus de 700 espèces de champignons sont entomopathogènes (Starnes et al., 1993) seuls quelques-uns d'entre eux ont été utilisés à une échelle industrielle dont le genre *Metharidium* et *Beauveria* (Kamp et Bidachka, 2002).

5.1. Généralités sur *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana est un microchampignon hyphomycète naturellement cosmopolite, ubiquitaire et saprophyte (Sabbahi, 2008; Ishii et al., 2015). C'est l'espèce avec la plus grande distribution géographique au sein du genre *Beauveria*, (Zimmermann, 2007). Ce champignon s'attaque à un large éventail d'insectes ravageurs, (Gupta et al., 1999; Saranraj et Jayaparakash, 2017).

Sa pathogénicité a été démontrée pour la première fois par Agostino Bassi de Lodi en 1835, soit 707 espèces dispersées dans 15 ordres, 149 familles et 521 genres (Zimmermann, 2007), et il a souvent été retrouvé sur des insectes infectés dans les zones tempérées et tropicales. Son potentiel infectieux dépend des propriétés physiologiques de la population de l'hôte et des conditions du milieu (Ferron et al., 1991).

5.1.1. Morphologie

Beauveria bassiana est un champignon filamenteux qui évoque une couche de mycélium blanc sur l'individu qu'elle attaque provoquant la maladie de la muscardine blanche comme elle produit des colonies cotonneuses de couleur blanchâtre à jaunâtre, (Figure 16 (A)) (Saranraj et Jayaparakash, 2017).

Sur le plan microscopique ce champignon forme des hyphes transparents et septaux de 3,5 µm de diamètre. Le genre est caractérisé par un conidiophore à base renflée et à extrémité terminale en zigzag formant de façon sympodiale de petites spores unicellulaires. (Figure 16

(B)). Le conidiophore continue de croître après avoir donné naissance aux spores et chaque spore laisse une cicatrice en relief (aspect denticulé). Les bouquets de conidiospores donnent un aspect en fausse tête (Weiser, 1972; Lipa, 1975).

B. bassiana est souvent décrit comme mitosporique (Ortiz-Urquiza et *al.*, 2010) qui se multiplie par reproduction asexuée (Sabbahi ,2008 ; Ziani ,2008).



Figure 16 : Morphologie de *Beauveria bassiana*
 A : Observation macroscopique (Original, 2019), B : Observation microscopique (Abdelaziz, 2019)

5.1.2. Classification

D'après Rehner et Buckley (2005), la classification récente de *Beauveria bassiana* est comme suit :

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Sous-phylum : Pezizomycotina

Classe : Sordariomycete

Sous-classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocreale

Famille : Cordycipitaceae

Genre : *Beauveria*

Espèce : *Beauveria bassiana*

5.1.3. Mode d'action

Le processus d'infection de *B. bassiana* s'accomplit en quatre phases distinctes à savoir : la phase d'adhésion, de germination et de différenciation, de pénétration et de dissémination.

a-Phase d'adhésion

L'attachement de *B. bassiana* est un processus qui se déclenche par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des spores avec les cellules tégumentaires de l'insecte (Vey et *al.*, 1982), cette phase dépend de plusieurs facteurs dont les conditions climatiques, la quantité d'inoculum fongique et la densité des insectes hôtes (Samson et *al.*, 1988).

b. Phase de germination et de différenciation

Une fois en contact avec les téguments de l'insecte, les spores germent et produisent une structure appressoriale qui sert de points d'ancrage et de ramollissement de la cuticule favorisant la pénétration des spores. La production des approssorias est dépendante de la valeur nutritive de la cuticule de l'hôte. (Samson et *al.*, 1988).

c. Phase de pénétration

Est une phase importante dans le processus d'infection. Au cours de cette phase Le champignon peut perforer la cuticule par la pression mécanique et par la production d'enzymes tels que (lipases, protéases, chitinases...) qui dissolvent la cuticule, (Butt, 1990; Mondal et *al.*, 2016). Une fois pénétré le champignon commence à coloniser l'insecte et produire des blastospores qui sont des structures spécialisées favorisant l'exploitation des nutriments, l'affaiblissement de l'immunité de l'insecte et la colonisation de ses tissus internes, (Mascarin et Jaronski, 2016).

d. Phase de dissémination

Après avoir colonisé la totalité de la cavité interne, le champignon cause la mortalité de l'insecte infecté à l'intérieur de trois à sept jours en absorbant tous ses éléments nutritifs (Mondal et *al.*, 2016). L'insecte mort présente une apparence déshydratée et momifiée (Sabbahi, 2008) et peuvent être disséminés par le vent, la pluie et d'autres moyens biotiques et abiotiques pour induire une nouvelle pathogénèse (Mascarin et Jaronski, 2016; Sabbahi, 2008).

5.2. Utilisation de *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana est considérée comme l'espèce la plus utilisée et la plus disponible sur le marché des mycoïsecticides et comme la plupart des microchampignons entomopathogènes, *Beauveria bassiana* peut être produit en masse et appliqué avec les méthodes conventionnelles (Faria et Wraight, 2007).

Plusieurs études ont montré que *Beauveria bassiana* peut affecter une large gamme d'ordres d'insectes, en effet ce champignon a prouvé son efficacité vis-à-vis les larves de la tordeuse à bandes obliques *Choristoneura rosaceana* appartenant à l'ordre des lépidoptères (Todorova et al., 2002).

Le potentiel insecticide de ce champignon contre les orthoptères a été reconnu et enregistré partout dans le monde par exemple sur les criquets (Halouane et al., 2001; Lednev et al., 2008; Bitsadze et al., 2013).

Des travaux effectués ont démontré que *B. bassiana* peut entraîner une mortalité élevée contre les coléoptères tels que : la coccinelle maculée, *Coleomegilla maculata* (Coccinellidae), le scarabée argentin, *Cyclocephalasi gnaticollis* (Scarabeidae).

De plus Ziani, (2008) et Sabbahi, (2008) ont démontré la susceptibilité des larves et des adultes de la punaise terne au *B. bassiana*, respectivement, dans les vignobles et les fraisières. Son efficacité contre la mouche blanche, *Trialeurodes vaporarium* en serre a été également établi par Labbé (2005).

Plusieurs espèces d'aphides sont aussi susceptibles à cet entomopathogène. En effet, il affecte le puceron vert du pêcher, *M. persicaer* (Lee et al., 2015) en prolongeant sa durée de développement et en diminuant la fécondité des femelles (Jaber et Araj, 2018).

En général, il est considéré comme un pesticide non sélectif car il parasite un très grand nombre d'hôtes arthropodes. Ce champignon entomopathogène est également appliqué contre la pyrale du maïs, la chenille du pin et les cicadelles vertes (Kaushal et al., 2016).

CHAPITRE II

ETUDE

BIOECOLOGIQUE ET

IDENTIFICATION

DES INSECTES

ETUDIES

Matériels et Méthodes
Résultats et Discussion

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

1. Introduction

Les céréales représentent l'un des principaux aliments de l'homme. Les mauvaises conditions de stockage causent des pertes très importantes dues à plusieurs facteurs dont l'attaque des différents insectes parmi les quelles on trouve le *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae* qui représentent un grand danger pour les stocks des céréales. L'objectif recherché est de mettre l'accent sur les différents paramètres bioécologiques de ces deux ravageurs susceptibles de nous donner des informations nécessaires pour une bonne gestion de lutte intégrée. Nous avons jugé utile afin de mener à bien cette partie d'étude de recourir à l'identification moléculaire pour une bonne précision dans l'identification des espèces cibles. Aussi un inventaire préliminaire est réalisé dont le but d'avoir une idée sur les insectes fréquentant les stocks.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Identification moléculaire des insectes

2.1.1. Extraction d'ADN

Cette expérience a été menée au niveau du laboratoire de biologie moléculaire de l'université d'Ankara (Turquie) sous la direction de Pr Nurper guz et Dr Sena Shagatay. L'ADN génomique des deux insectes ravageurs des denrées stockées *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum* a été isolé en se basant sur la méthode des Kit « Roch ».

Le choix de cette technique est basé sur le bon rendement et la pureté d'ADN. Les différentes étapes consistent d'abord en un broyage des insectes dans des tubes Eppendorf stériles à l'aide d'un pastel à qui on ajoute 200µl de tampon de lyse pour faciliter l'écrasement des échantillons. Ensuite 40µL de protéase K ont été ajoutées aux 200µl pour dénaturer toutes les enzymes et dégrader les protéines des insectes broyés. Les échantillons ont été gardés à une température de (-30°C), ensuite laissés un jour dans un bain marie à une température de 55°C. Après une centrifugation, un volume de 200 µl de Binding buffer a été ajouté aux échantillons et l'ensemble a été incubé pendant 10 min à 70°C. Enfin 100µL d'Isopropanol a été rajouté afin de précipiter l'ADN

2.1.2. Amplification par PCR

L'ADN génomique de chaque échantillon a été amplifié in vitro avec des amorces spécifiques complémentaires à la sous-unité de codage séquentiel I du cytochrome oxydase

mitochondriale et de l'ARNr. Une paire d'amorces Ldg.HCO avant et LCO arrière a été utilisée pour l'amplification du COI.

Les réactions PCR ont été réalisées dans un Master cycler Eppendorf et selon les méthodes de Roche. Les mélanges réactionnels contenaient 50 ng d'ADN, 1 μ M de chaque amorce, 200 μ M dNTP et 0,2 U d'Allegro Taq polymérase. Les échantillons ont été amplifiés pendant plusieurs cycles. Chaque cycle comprenait les étapes suivantes : dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, extension de l'amorce à 72°C pendant 30seconds). Les produits des amplifications ont été analysés dans 1 % d'un gel d'agarose.

2.1.3 Préparation du gel d'agarose 1%

Dans une fiole on mélange 100 μ l de la solution TAE avec 1g d'agar ensuite on les réchauffe pendant 3minutes, 5 μ l de Pronosafe est ajouté pour garder le mélange. L'ensemble est mis dans un bac pour la solidification du milieu.

2.1.4. Analyses statistiques

Pour établir le profil des sites de restriction spécifiques à l'espèce pour les séquences d'ADNr de *T. confusum* et *S. oryzae* une analyse des sites de restriction a été effectuée en utilisant le programme d'analyse des données NCBI 2018.

2.2. Etude bioécologique de *Sitophilus oryzae* et de *Tribolium confusum*

2.2.1. Elevage de masse des insectes

Dans le souci d'obtenir des populations homogènes et suffisantes des insectes pour les différents tests biologiques, un élevage de masse a été effectué avec deux souches des deux espèces de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae* collectés à partir d'un stock de blé tendre d'un agriculteur dans la région de Mascara et dont l'identification moléculaire a été confirmée comme c'est précédemment décrit. L'élevage consiste à mettre les individus mâles et femelles de chaque espèce chacune a part dans des bocaux en verre (12cm de longueur et 6cm de diamètre). Chaque bocal contient 250 g de farine et 5% de levure de boulangerie. L'ensemble est placé dans une étuve réglée à une température de 28°C et une humidité relative de 70%

2.2.2. Dimorphisme sexuel

Chez la plupart des coléoptères, il n'existe aucune différence extérieure visible entre les deux sexes mais dans certains cas il ya des caractères sexuels secondaires qui peuvent être le propre soit du mâle, soit de la femelle (Guignot, 1957).

Dans nos expérimentations pour identifier le sexe des insectes étudiés, nous avons séparé 20000 chrysalides de *Tribolium confusum* à l'aide d'une loupe binoculaire, les mâles et les femelles se distinguent par la partie terminale de l'abdomen. Chez les femelles, les papilles génitales sont situées juste en avant des urogomphes et sont nettement plus développée que chez les mâles).

Chez le *Sitophilus oryzae*, la distinction entre le mâle et la femelle se remarque au stade adulte. Nous avons séparé 1000 adultes, les femelles se caractérisent par un rostre long lisse faiblement ponctué par rapport aux mâles qui ont un rostre court et épais profondément ponctué (Fourar ,1994)

2.2.3. Accouplement

Le choix du partenaire féminin a été une préoccupation majeure de la théorie de la sélection sexuelle (Andersson, 1994). Dans cette expérience grâce à l'observation quotidienne et à l'aide d'une loupe binoculaire, nous avons pu connaitre et suivre l'accouplement et le rapprochement sexuel chez des deux insectes.

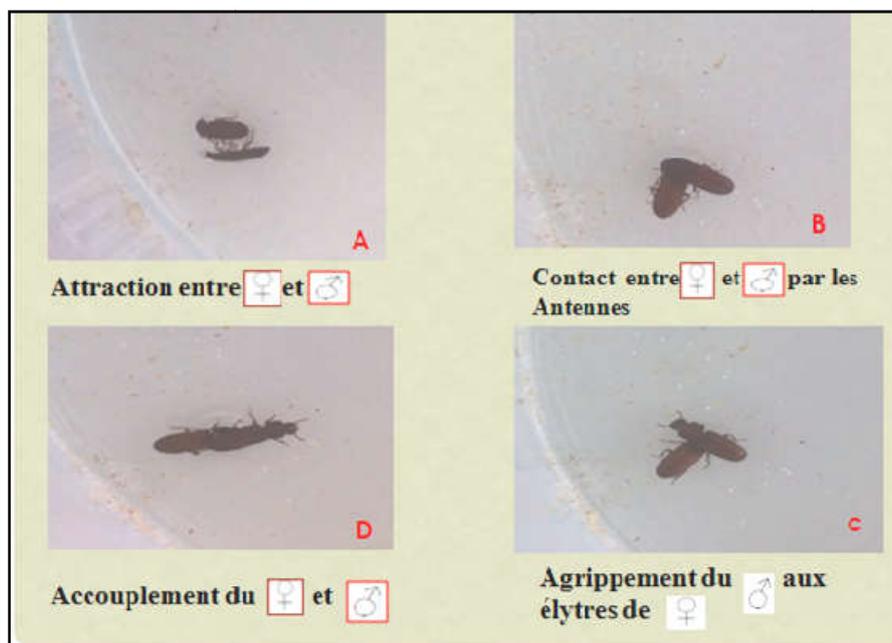


Figure 17 : Méthode d'accouplement chez *Tribolium confusum*

Les deux sexes (mâles et femelles) après leurs émergences et en courbant leurs corps forment la roue d'accouplement. Le mâle et la femelle se touchent sans cesse à l'aide de leurs antennes, la femelle finit par s'immobiliser et le mâle s'accroche à ses élytres. La copulation a lieu plusieurs fois au cours de leur existence et elle n'a pas dépassé 10 minutes dans notre expérimentation pour les deux insectes (Figures 17,18).



Figure 18 : Méthode d'accouplement chez *Sitophilus oryzae*

2.2.4. La longévité

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer la durée de vie des individus des deux insectes *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum* (mâles et femelles) sous l'influence d'une température de 28°C et une humidité relative de 70%. 100 couples (100 mâles et 100 femelles) pour chaque espèce qui n'excèdent pas les 24 heures d'âge sont réparties dans des boîtes de pétri de 9cm de diamètre contenant chacune 1g de substrat de farine pour *T confusum* et de 1g de grains de blé pour *S oryzae*. L'observation est faite quotidiennement à l'aide d'une loupe binoculaire jusqu'à la mort de tous les individus des deux insectes.

2.2.5. La fécondité

Le même dispositif expérimental précédent a été utilisé pour cette expérience. La fécondité de *T confusum* et de *S oryzae* a été estimée par le dénombrement quotidien des œufs pondus de 100 femelles pour chaque espèce sous loupe binoculaire chaque jour.

2.2.6. La fertilité

Après une durée d'incubation sous les mêmes conditions et pour les mêmes boîtes des expériences précédentes, nous avons apprécié la fertilité qui est le rapport entre le nombre d'adultes émergés et le nombre total de larves. $TF = (\text{Nombre d'adultes émergés} / \text{nombre total de larves}) \times 100$. Nous avons compté le nombre d'œufs éclos donnant les larves de premier stade.

2.2.7. Estimation du sexe ratio

Ce paramètre est déterminé par le calcul du pourcentage des mâles par rapport aux femelles.

Pour réaliser cette expérience 2000 individus mâles et femelles en total sont réparties dans 20 boîtes soit 100 individus (mâles et femelles) par boîte.

2.2.8. Dénombrement des trous de ponte de *Sitophilus oryzae*

Pour pouvoir observer les trous de ponte des femelles de *Sitophilus oryzae*, nous avons réalisé une coloration par la méthode de Holloway (1985), qui consiste à tremper les grains infestés dans l'eau tiède puis les imprégner dans la solution de Fushine. Après un rinçage des grains à l'eau, on observe une substance mucilagineuse avec une couleur rouge cerise cette dernière bouche les trous de ponte. Le dénombrement est réalisé sous une loupe binoculaire.

2.2.9. Etude des cycles de développement des deux insectes

Les cycles de développement des deux insectes ont été menés sous des conditions contrôlées dans une étuve réglée à une température de 28°C et une humidité relative de 70%. Le développement larvaire et nymphale chez *Sitophilus oryzae* se déroule à l'intérieure des grains et sur différents substrats chez *Tribolium confusum*. Pour pouvoir observer ces stades cachés nous avons utilisé 1 g de farine pour *Tribolium confusum* et 1 g de grain de blé pour *Sitophilus oryzae* que nous avons mis dans des boîtes comme substrat auxquels nous avons ajouté 50 couples de chaque espèce âgée de (0-24heures). Les essais sont répétés trois fois.

2.3. Inventaire et évaluation des dégâts

L'augmentation de la diversité végétale entraîne par conséquent une augmentation de la diversité des phytophages. Pour connaître les ravageurs qui règnent au niveau des entrepôts des céréales et estimer leurs dégâts ainsi que pour contribuer à la maîtrise de la technique de conservation des denrées alimentaires à petite échelle et avec de simples moyens, des essais ont été effectués au niveau du laboratoire (LRSBG).

Cette expérience s'est déroulée dans un milieu bien aéré propre et désinfecté durant la période allant de 15 mai au 1 septembre 2019, les températures relatives étaient de 27°C. Dans un premier temps, l'essai a été conduit sur le blé tendre *Triticum aestivum* obtenus par la CCLS de Aouf (Mascara). Les semences ont été divisées en deux lot chacun contient 25kg.

L'essai consiste à introduire un nombre de 1000 couples (1000 mâles et 1000 femelles) de chaque insecte étudié (*Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*) séparément dans chaque sachet contenant des grains préalablement nettoyés.

En deuxième temps, un autre essai est réalisé qui consiste à mettre des grains sains de blé tendres (25kg) dans un sachet et les laisser dans les mêmes conditions du laboratoire. Le but de cet essai et d'inventorier les insectes présents .le control étant régulier durant toute la période de l'essai.

2.3.1. Détermination du pourcentage d'attaque (PA)

Soit un lot de N grains que l'on sépare en grains sains et en grains attaqués (pointel ,1980).

$$PA = \frac{Na}{Ns + Na} * 100$$

Avec :

Na=Nombre de grains attaqués

Ns=Nombre de grains sains

3. Résultats et Discussion

3. 1. Identification moléculaire des insectes

On se basant sur les résultats d'électrophorèse sur gel d'agarose démontrés dans la figure 19 et en se référant au site NCBI, l'ADN des espèces amplifiées étaient avec précision 99,99% *T. confusum* et *S. oryzae*. Le gel des deux réactions de PCR valide la spécificité des amorces de *Tribolium confusum* (a) et *Sitophilus oryzae* (b).

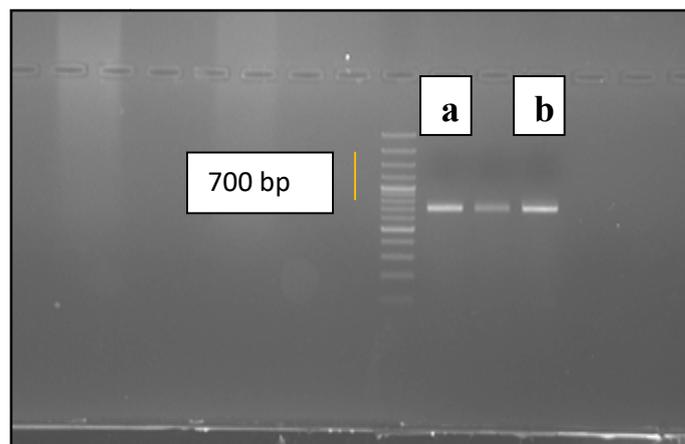


Figure 19: les espèces amplifiées par PCR
a: *Tribolium confusum* **b:** *Sitophilus oryzae*

L'espèce de *T. confusum* est presque morphologiquement semblable à celle de *T. castaneum*, ces deux espèces semblables d'aspects et de taille identique se distinguent par la forme de leurs antennes (Lepesme, 1978). *S. oryzae* et *S. zeamais* se présentent aussi comme espèces jumelles (Gallo et al., 2002) car elles présentent la même morphologie.

En effet, l'identification moléculaire reste une solution alternative à la taxonomie conventionnelle et même aux méthodes classiques afin d'élaborer des stratégies de lutte vis-à-vis ces ravageurs des denrées stockées. Cette technique réalisée au cours de ce travail est en accord avec les travaux menés par d'autres chercheurs dans le monde qui ont vu la nécessité de développer ces méthodes d'identification (Rugman-Jones et al., 2006; Qin et al., 2008; Wang et al., 2009; Nowaczyk et al., 2009; Ming et al., 2014; Zhang et al., 2016); Sahand et al., 2017; Ndiaye, 2018).

3.2 Etude des paramètres bioécologiques des deux insectes

A titre indicatif nous avons reporté sur le tableau 16 les résultats des paramètres bioécologiques de *Sitophilus oryzae* et de *Tribolium confusum*.

Cette étude nous a permis d'estimer pour *Tribolium confusum* une fécondité de 150 œufs, une fertilité de 86.66% et un sexe - ratio de 1.61 avec une durée de vie ou une longévité de 7mois dans les bonnes conditions de laboratoire (28°C et H, 70%). *T. confusum* peut avoir 10 générations qui se succèdent au cours de l'année.

Par ailleurs, *Sitophilus oryzae* peut vivre une durée de 6 mois dans les conditions de notre expérimentation déjà citée. La moyenne de ponte est de 18œufs /femelle, cette dernière peut pondre 4 œufs dans un seul grain, son pourcentage de fertilité est de 83,33 % avec un sexe ratio de 1, 86. La calandre de riz peut atteindre 7 générations par an.

Tableau 16: Paramètres bioécologique de *T. confusum* et *S. oryzae*

Paramètres étudiés		Longévité	Fécondité	Fertilité	Sexe ratio	Durée d'incubation	Durée du cycle	Nbre de générations
Moyenne	<i>Tc</i>	7 Mois	150 œufs	86,66 %	1.61	10j	30j	10
	<i>So</i>	6 mois	18 œufs	83.33%	1.86		30j	7

Le suivi du cycle de développement de *Tribolium confusum* et de *Sitophilus oryzae* dans les conditions de notre expérimentation a permis de montrer que :

Pour *Tribolium confusum* les femelles déposent généralement leurs œufs directement sur les substrats de farine et parfois sur les parois des boîtes de Pétri. La durée d'incubation est de 10 jours.

Nous avons observé que le développement larvaire et nymphal de cet insecte s'effectue sur le substrat, la larve L1 qui émerge de l'œuf est très mobile et elle peut pénétrer parfaitement dans les grains et dans le substrat. Deux jours après, la larve du premier stade L1 mue. Les stades larvaires se ressemblent par leurs formes cependant ils se distinguent par leurs tailles. Le développement de L2 dure 2 à 3jours pour devenir une larve de 3^{ème} stade. Les larves L4, L5, L6, L7 et L8 sont de taille plus importante. (Figure 20)

Pour *Sitophilus oryzae*, la femelle creuse un trou de ponte à l'aide de son rostre pour y pondre ses œufs à l'intérieure des grains (Figure 21). Le développement larvaire s'effectue à l'intérieur des grains et peut atteindre quatre à cinq stades larvaires, après la nymphose qui dure une semaine l'insecte prend la forme d'un imago qui se transforme après 24heures en

adulte. La durée du cycle de développement est de 30 jours à 28°C et 70% d'humidité relative. Les cycles de développement de *Sitophilus oryzae* et de *Tribolium confusum* sont illustrés par les figures 22 et 23.

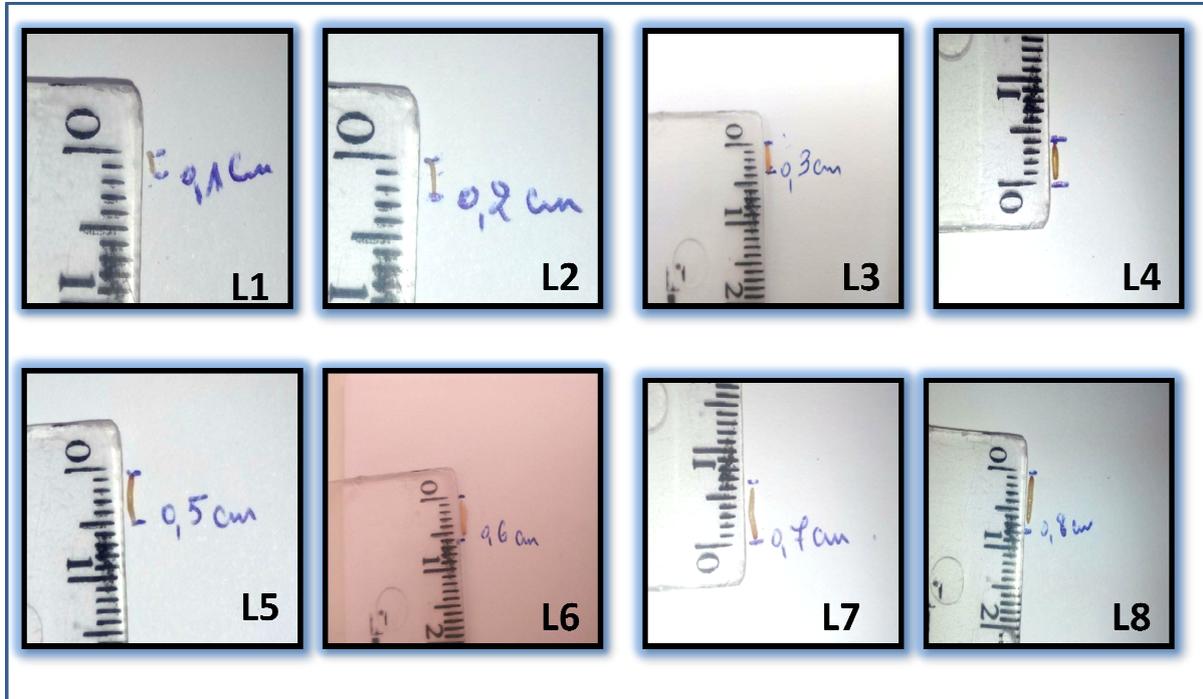


Figure 20 : Mensuration des différents stades larvaires de *Tribolium confusum* (Originale, 2022)

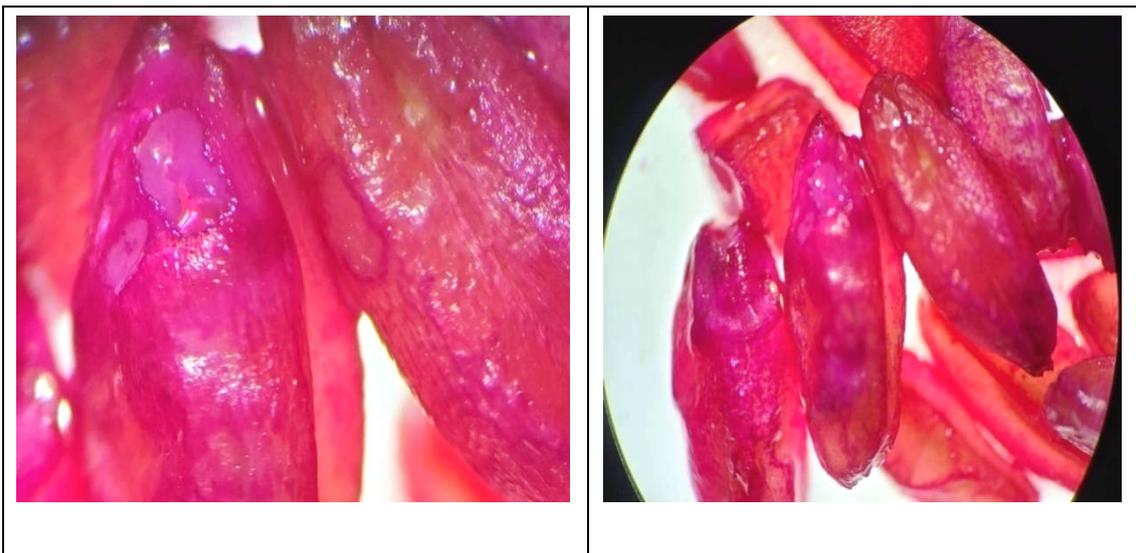


Figure 21 : Trous de pontes de *Sitophilus oryzae* (Originale, 2022)

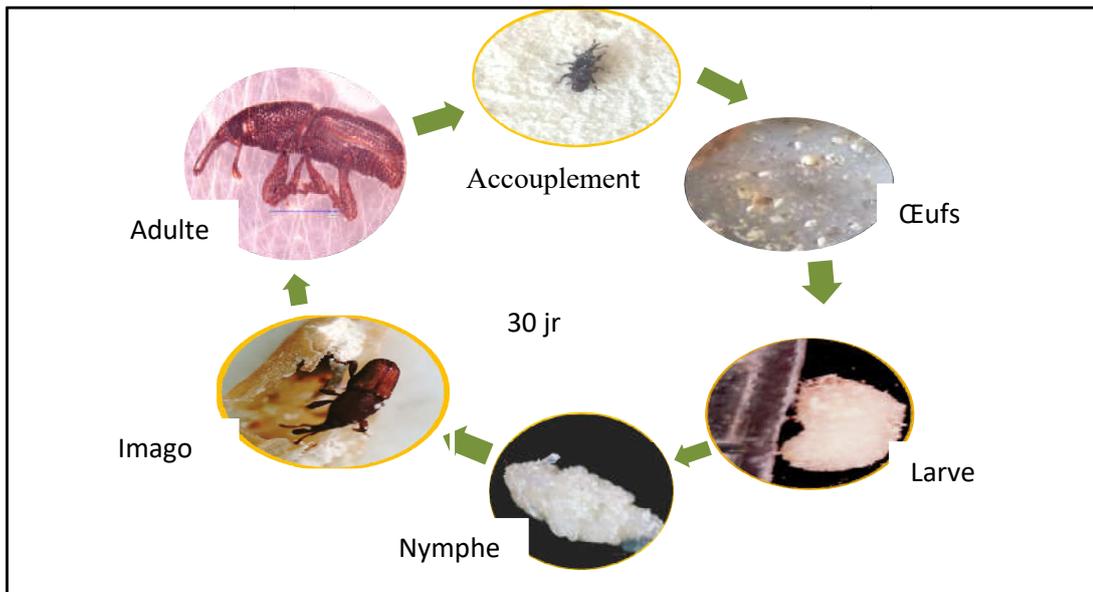


Figure 22 : Cycle de vie de *Sitophilus oryzae*

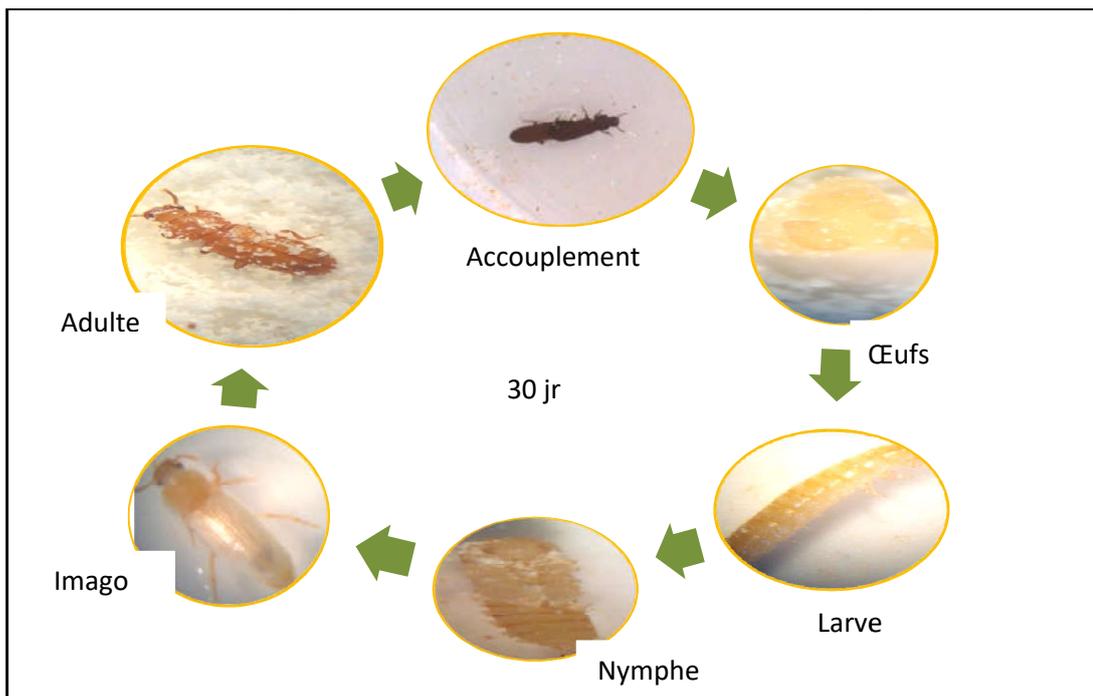


Figure 23 : Cycle de vie de *Tribolium confusum* (Originale, 2022)

Pour lutter efficacement contre les insectes ravageurs des stocks, il est indispensable de maîtriser leur développement dans des conditions bioécologiques bien définies. *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*, sont des ravageurs des denrées stockées, leurs capacités à

dérouler leurs cycles de développement sur divers substrats alimentaires et dans toutes les conditions bioclimatiques ont suscité des réflexions sur leurs adaptabilités morphologiques.

Sitophilus oryzae, un ravageur primaire son développement larvaire et la nymphose s'effectuent à l'intérieur des grains, la dissection des grains de blé nous a permis d'observer les stades cachés de ce ravageur.

Tribolium confusum, un déprédateur secondaire, son développement larvaire et nymphal s'effectue sur les substrats. Après l'éclosion, la larve L1 creuse une galerie dans le substrat. L'étude des deux insectes et leurs paramètres biologiques nous ont révélé d'abord que dans les conditions de notre expérimentation (28°C et 70 % d'humidité relative) la durée moyenne du cycle biologique de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae* est de 30±1 et 30 jours respectivement. Les stades larvaires et nymphals sont prédominants par leurs durées. Par ailleurs cette étude a conduit à des résultats conformes à ceux de la littérature ; en effet

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Gueye et *al.*, (2015) qui ont enregistré chez *T. castaneum* une durée du cycle de 30, 42 ± 2,02 jours dans le mil brisé à une température oscillant entre 24,5 et 31°C et une humidité de 41 à 80% H.R.

Dawson, (1964) rapporte que la durée du cycle dure 33 jours à une température de 28,5°C et une humidité relative variant entre 65 et 75 %.

Tribolium castaneum est un insecte facile à élever avec un cycle de développement court de 30 jours. IL a exceptionnellement une longévité de six mois à quatre ans et une fécondité élevée (Bonneton, 2010). Young, (1970) rapporte que le cycle de vie de *Tribolium castaneum* se répartie en: 4,7 jours pour les œufs, 20 jours pour les larves et 6,7 jours pour les nymphes, l'adulte qui émerge de la nymphe vit en moyenne 6 mois mais il peut survivre jusqu'à une année et demie. Holdaway, (1932) signale que le taux d'éclosion augmente avec l'augmentation de la température, selon le même auteur la température idéale pour l'éclosion est de 28,5°C de même How, (1956) précise que les œufs éclosent au bout de 5 à 12 jours selon la température et l'humidité relative.

Selon les conditions de notre expérimentation, le nombre de mues larvaires peut atteindre huit. La température, l'humidité relative, le type et la disponibilité des substrats alimentaires restent les principaux facteurs affectant la durée du cycle de développement de *Tribolium confusum*. De ce fait, l'étude de Diome, (2014) met en exergue l'effet de l'alimentation sur la bioécologie de cet insecte, il a montré que les grains du mil sont plus

favorables au développement de *T. castaneum* et les larves passent par 5 à 11 mues avant d'atteindre 5 mm à la fin de leur croissance en 3 à 9 semaines. Ce résultat est similaire à celui de Gueye et *al.*, (2015) qui ont noté que les larves sont mobiles et se nourrissent, elles sont d'une teinte blanche avec du jaune et passent par 5 à 11 mues. L'élevage de l'insecte sur la poudre de farine nous a permis d'observer le développement nymphal qui s'effectue sur les substrats.

Camara (2009), avance que l'adulte émerge de la nymphe six jours après sa formation avec un optimum thermique qui se situe entre 32 et 33°C, son développement cesse au-dessous de 22°C et il résiste très bien aux basses hygrométries

Concernant la fertilité de *T. castaneum*, nos résultats corroborent à ceux de Gueye et *al.*(2015) qui ont noté une fertilité de 84,31% sur la farine de Mil et un sexe ratio de $1,9 \pm 0,1$ sur le même substrat.

Selon, Robinson (2005), 90% des œufs sont viables à une température de 30°C, les œufs éclosent au bout de cinq jours, cependant la période d'incubation nécessite 10 jours en conditions défavorables. Le même auteur montre qu'en conditions favorables il ya 5 à 11 stades larvaires. À 30°C l'adulte émerge de la nymphe six jours après sa formation en achevant le cycle en (26 - 30) jours.

D'après Steffan, (1978) les adultes de *Sitophilus oryzae* émergent à une température de 28°C et une humidité relative de $70 \pm 5\%$. Dans ces conditions la durée de cycle de développement est de 25 jours. Multon et David, (1982); Appert, (1992) ont noté que la longévité moyenne de *S oryzae* est de quatre à sept mois et cela en fonction de la température et de l'humidité relative .Le développement de la larve se fait à l'intérieur de la graine et dure environ cinq semaines (Appert, 1992). Par ailleurs Steffan, (1978) rapporte que les adultes de *Sitophilus oryzae* ne peuvent pas vivre au delà de sept mois cette constatation est la même que la notre, aussi Derguaoui, (1982) a noté que la durée du cycle de développement de *Sitophilus oryzae* dépend étroitement des conditions du milieu. Sur le plan physiologique cette durée est en fonction du nombre à la fois constant et peu élevé des mues, comptant 3 mues pour 4 stades larvaires (Lacoste,1970; Steffan, 1978). La larve à maturité mesure 2,5 à 3 mm de long (Delobel et Tran, 1993).

Lepesme (1944), affirme que les adultes *S oryzae* âgés de trois jours, leur copulation dure 15 minutes à 1h30 minutes, Cette dernière peut se répéter plusieurs fois au cours de leur

vie (Kehe, 1975; Steffan , 1978). Le nombre d’œufs pondus dépend étroitement de la dureté du grain, de la température et de l’humidité (Steffan, 1978).

3.3. Inventaire des insectes du blé stocké

Dans la présente étude, on s’inspirant de la méthode de (Worou et *al.*, 2016) sur la collecte des insectes nuisibles provenant des échantillons des grains infestés au niveau des stocks, nous avons obtenus les résultats qui sont consignés dans le tableau 17.

Tableau 17: les espèces des insectes inventoriées dans le blé

Insectes	Ordres	Espèces	Nombre d’individus (NI)		FR%
Vers brun de la farine	Coléoptères	<i>Tribolium confusum</i>	Larves	1200	58.23%
			Adultes	2500	
Vers rouge de la farine	Coléoptères	<i>Tribolium castaneum</i>	Larves	156	8.54%
			Adultes	387	
			Larves	105	
Pyrale de la farine	Lépidoptères	<i>Ephestia kuinela</i>	Adultes	59	2.58%
Cadelle	Coléoptères	<i>Tenebroides mauritanicus</i>		71	1.11%
Charançons du riz	Coléoptères	<i>Sitophilus oryzae</i>		1500	23.60%
Capucin	Coléoptères	<i>Rhizoperta dominica</i>		257	4.04%
Sylvain	Coléoptères	<i>Oryzaephilus spp</i>		49	0.77%
Acariens	/			70	1.10%

Le recensement des insectes dans cette étude réalisé nous a permis de dresser une liste des espèces qui appartiennent à deux ordres dont : les coléoptères et les lépidoptères.

L’ordre des coléoptères comprend six espèces dont les plus fréquentes : *Tribolium confusum* (58,23% et *Sitophilus oryzae* (23.60%) et concernant l’ordre des lépidoptères, l’espèce *Ephestia kuinela* est présente dans nos échantillons avec un pourcentage de 2.58%.

De nombreux travaux scientifiques démontrent la présence des ravageurs au niveau des denrées stockées (Righi et *al.*, 2010,2017 ; Kassemi, 2014 ; Madene, 2014; Goucem, 2014 ; Karahacan, 2015). Momar et *al.*, (2011), montrent que la majorité des problèmes phytosanitaire des denrées stockées en Sénégal et en Afrique sont causés par les insectes et les rongeurs.

De même Badr, (2014) a signalé dans ses travaux que les principaux insectes déprédateurs des denrées stockées sont les coléoptères (charançon, Capucin des grains, Tribolium) et les lépidoptères (la teigne et la pyrale).

3.4. Evaluation des dégâts causés par *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*

Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (Fleurat-Lessard, 1984). Parmi ces coléoptères, figure la calandre du riz *Sitophilus oryzae*. (L) Coleoptera: Curculionidae) comme espèce primaire et le ver rouge de la farine *Tribolium confusum* Coleoptera: Tenebrionidae) comme espèce secondaire.

Les résultats d'estimation des dégâts causés par ces deux ravageurs sont démontrés dans le tableau suivant :(Tableau 18)

Tableau 18: Estimation du pourcentage d'attaque de *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*

Espèce	Fréquence	PA %	C %
<i>Tribolium confusum</i>	++++	98,42 %	Omniprésente
<i>Sitophilus oryzae</i>	++++	95%	Omniprésente

Il ressort que *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum* sont très fréquente (++++) dans le test réalisé sur le blé. Leurs pourcentages d'attaque (PA%) calculés sont respectivement de 98,42% et 95%.

En se basant sur la méthode de Dajoz, (1976) nous qualifions *T confusum* et *S oryzae* comme espèces omniprésentes avec une fréquence d'occurrence = 100%.

De nombreux chercheurs ont estimé les dégâts causés par les ravageurs des denrées stockées dont (Bekon fleurat et Lessard, 1989; Mebarkia, 2002 ; Aidani, 2015 et Lakhial, 2018).

Nos résultats se rapprochent en matière de dominance de ceux de Tazerouti et al. (2001) qui rapportent que parmi les espèces rencontrées sur les céréales stockées vient en premier lieu *Tribolium castaneum* avec 30% suivi par *Sitophilus oryzae* avec 26% dans le blé.

Karahacan, (2015) a estimé un pourcentage d'attaque causé par les insectes de 12% à Khemis Miliana et 10% à Ténès durant une période allant du mois de Janvier à Juin et d'après Bulot, (1990) les pertes peuvent atteindre jusqu'à 30%.

Conclusion

A travers des outils moléculaires utilisés dans ce chapitre il a été possible d'identifier les deux espèces mises en cause. Leurs études bioécologiques sous des conditions contrôlées de température et d'humidité nous ont révélé des résultats très importants concernant les différents paramètres biologiques et vitaux. L'inventaire réalisé a mis en évidence la présence de plusieurs espèces appartenant à l'ordre des coléoptères avec la dominance des espèces étudiées et l'ordre des lépidoptères représentée par d'une seule espèce. Les pourcentages d'attaque (PA%) calculés sont respectivement de 98,42% et 95% pour *Tribolium castaneum* et *Sitophilus oryzae*.

La bonne identification, la connaissance des paramètres bioécologiques ainsi que l'évaluation du taux d'infestation des bioagresseurs constituent le premier pas pour le bon control phytosanitaire.

CHAPITRE III ETUDE PHYSICO CHIMIQUE DES PLANTES ETUDIEES

**Matériels et Méthodes
Résultats et Discussion**

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

1. Introduction

Les plantes médicinales représentent un réservoir inépuisable de composés potentiels , dans ce contexte ce chapitre est consacré en premier lieu à l'étude de méthode d'extraction des huiles essentielles ainsi que la détermination des caractéristiques organoleptiques et physicochimiques des huiles et CPG/ms. En second lieu à la réalisation de la phytochimie de chaque extrait ainsi que l'évaluation de l'activité anti oxydante.

2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour réaliser cette étude est constitué de cinq plantes médicinales à savoir :(*Mentha rotundifolia* ,*Mentha pulegium* , *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*) appartenant à deux familles différentes (Lamiacées et Anacardiacees).

2.1. Les critères de choix des plantes

Les plantes aromatiques sont la source pour de nombreuses substances telles que les huiles essentielles et les poudres dont elles font l'objet de notre étude. Le choix de ces substances est basé sur :

- La richesse de la flore Algérienne.
- La disponibilité.
- Le pouvoir bioactif et bioinsecticide, leur volatilité qui facilite leur application au niveau des stocks.
- Rendement plus ou moins important et disponibilité au niveau de notre région.
- Absence de modification du goût des produits céréaliers et même si possible de L'améliorer

2.2. Récolte et préparation du matériel végétal

Nous avons choisi pour nos tests, des plantes aromatiques appartenant à différentes familles provenant de la wilaya de Mascara (l'Ouest Algérien), occupant une superficie de 594 100 ha (Figure24). La récolte s'est effectuée pendant le mois de Mars 2017 (Tableau 19). L'identification de ces plantes a été réalisée par Dr Righi. K, enseignant chercheur du département des Sciences Agronomiques de l'Université de Mascara. Une fois récoltées, elles sont séchées pendant dix jours à l'abri de la lumière pour préserver l'intégrité de leurs molécules. Une partie du matériel végétal pour chaque plante est utilisée pour l'extraction des

huiles par un appareil de type (Clevenger 1928) tandis que l'autre partie est broyée en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

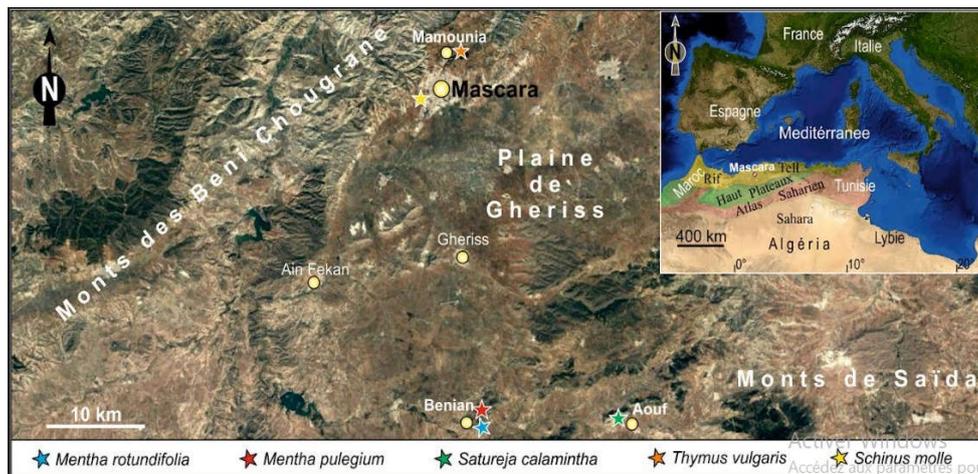


Figure : 24. Présentation de la région d'étude et Localisation des Prélèvements des plantes médicinales (Google earth)

Tableau19 : Présentation des plantes médicinales

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Famille botanique	Région de récolte	Partie utilisée	Date de récolte
<i>Mentha rotundifolia</i>	-Timerset -Domrane -Timijo	Lamiacées	Mascara	partie aérienne	Mars-Juin 2017
<i>Satureja Calamintha</i>	-Napta -Keteya				
<i>Mentha Puleguim</i>	-Fliou -Felgou -Moursal				
<i>Thymus vulgaris</i>	-Zaateur -Zaitra				
<i>Schinus molle</i>	-Felfel -Rafiaa el Awrek				

2.3. L'extraction des huiles essentielles

A l'aide d'un dispositif d'extraction de type Clevenger, le procédé d'extraction à été effectué au niveau du laboratoire de LRSBG. Cette technique d'extraction se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter Les phases volatiles extraites du matériel

végétal. L'opération consiste à introduire 100g de masse végétale de la plante dans un ballon en verre en y ajoutant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant le remplir pour éviter les débordements de l'ébullition.

L'appareil est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées en huiles Essentielles en traversant un réfrigérant se condensent et se séparent en deux phases liquides ; une phase aqueuse (eau aromatique) et une phase organique constituée par l'huile essentielle.

Cette opération dure 3 heures à partir du début de l'ébullition. Les phases récupérées sont Conservées à +4°C dans des flacons stériles en verre dans un réfrigérateur. Pour une étude approfondie l'hydrodistillation a été menée chaque jour pour optimiser le rendement de l'extraction en fonction du séchage du matériel végétal.

2.4. Détermination des rendements

L'extraction par hydrodistillation des phases volatiles des parties aériennes des plantes médicinales a été menée chaque jour pour définir la valeur maximale du rendement en fonction du temps de séchage et dans les mêmes conditions de travail. Le rendement a été déterminé à partir du rapport de la quantité d'huile recueillie du cumul de plusieurs distillations sur la quantité de la biomasse, exprimé en pourcentage soit :

$$R\% = \frac{M \text{ huile}}{M \text{ plante}} \times 100 \text{ où : Rdt : rendement en huile essentielle (\%)}$$

M huile : Masse de l'huile essentielle extraite (g)

M plante : Masse de la plante (g).

2.5. Etude analytique des huiles essentielles

2.5.1. Les caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des cinq plantes ont été déterminées après l'étape d'hydrodistillation. Chaque huile est caractérisée par une couleur, une odeur et un aspect spécifique.

2.5.2. Les paramètres physico-chimiques

Tous les caractères physico-chimiques sont réalisés selon les normes (AFNOR ,2000).

- **La densité**

La densité relative est exprimée par le rapport de la masse de volume d'huile essentielle à la masse de volume égale d'eau distillé à 20°C dans un pycnomètre.

$$D_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0).$$

m_0 : masse de pycnomètre vide en g

m_1 : masse de pycnomètre rempli en eau en g

m_2 : masse de pycnomètre rempli en huile essentielle en g

- **L'acidité**

Le potentiel d'hydrogène pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre.

- **L'indice de réfraction**

Ce paramètre a été mesuré à l'aide d'un refractomètre en déposant quelques gouttes de chaque huile au milieu de prisme. $I_{20} = I_t + 0,00045 (t - 20^\circ\text{C})$

I_{20} : indice de réfraction à 20°C

I_t : indice de réfraction à temps en laboratoire

T : température ambiante

0,00045 : coefficient

2.5.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/ MS)

L'analyse chimique en vue d'identifier les principaux constituants de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* été réalisée au niveau du laboratoire de Chimie Physique des Macromolécules et Interfaces sur la base de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie GC/M Type Shimadzu TQ8030 couplée à un spectromètre. La fragmentation a été réalisée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire RTX-1 (30 m x 0,25 mm), l'épaisseur du film est de 0,25 µm. La température de la colonne a été programmée à une vitesse de 5°C/mm de 40°C à 150 °C et 15 °C /min de 150 °C à 300 °C.

Le vecteur était l'hélium dont le débit est fixé à 40 ml/Mm. Le mode d'injection est divisé moins le rapport de fuite : 30. L'identification des composants a été basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des bibliothèques (Wiley et NistTutore, Adams ,2001).

2.6. Criblage phytochimique des plantes médicinales

2.6.1. Préparation des poudres végétales

Une fois les plantes sont séchées, elles sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique puis le broyat est passé dans un tamis (0,6 mm de maille) afin d'obtenir une poudre de granulométrie homogène. Les poudres sont conservées séparément dans des flacons au frais à l'abri de la lumière et de l'air

2.6.2. Préparation des extraits aqueux

Après le broyage du matériel végétal, on s'inspirant de la méthode de Bounihi (2016), une prise d'essai de 50 g de la poudre végétale de chacune des plantes est versée dans 100ml d'eau distillée puis portée à ébullition pendant 20 min .Après agitation, le mélange est laissé refroidir à température ambiante pour être filtré par la suite sur le papier wattman n°01 afin de séparer le marc du filtrat.

Le screening phytochimique a été effectué sur les extraits aqueux préparés précédemment pour déterminer les principaux groupes chimiques des métabolites secondaires de chaque plante médicinale étudiée en adoptant plusieurs méthodes décrites dans le tableau 20.

Tableau 20: Screening phytochimique des extraits des plantes médicinales

Groupes chimiques	Réactifs	Indicateurs	Références	
Alcaloïdes	Réactif de Mayer +réactif de Wagner	Précipité blanc ou brun	Majob, (2003)	
Polyphénols	Flavonoïdes	2ml d'EA+HCL+tournure de mg	Couleur rouge ou orange, rose	Karumi et al.,(2004)
	Tanins	2ml d'EA+FeCl ₃	Coloration verdâtre	Karumi et al.,(2004)
	Quinone libre	2ml d'EA+NaOH	Jaune, rouge ou violet	Oloyede, (2005)
	Anthraquinone	5ml d'EA+2ml NH ₄ OH	Couleur violet	Oloyede, (2005)
	Coumarines	2mld'EA+ 0.5NH ₄ OH+ultraviolette a 366nm	Fluorescence intense	Benmehdi, (2000)
	Anthocyanes	1ml d'EA+3ml H ₂ SO ₄ +1ml NH ₄ OH	Couleur vire au bleu	Karumi et al., (2004)
Hétérosides cardiotoniques	2ml d'EA +2mlacide acétique glacial+Fecl ₃ +acide sulfurique	Anneau brun	Karumi et al., (2004)	
Saponines	5ml d'EA+agitation 15s+repos 15min	Mousse	Rosine et Momo, (2009)	
Terpenoïdes	2.5ml d'EA+0,4 ml de chloroforme+0,6acide sulfurique	Anneau marron-rouge	Edeoga et al., (2005)	

2.7. Analyse pharmacologique des huiles essentielles

Le test mené vise à mettre en évidence les propriétés médicinales de chaque huile testée

2.7.1. Test de l'activité antioxydante

Beaucoup de tests sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. La plupart de ces tests sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans la présente étude nous avons évalué l'activité antioxydante par la mesure du pouvoir de piégeage du radicale libre DPPH*(1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) on utilisant la méthode décrite par Bounihi (2016). Dans des tubes à essai secs 100µl de chaque solution méthanoïque de chaque concentration des huiles essentielles sont ajoutés à 2,9ml de la solution méthanoïque du DPPH de 0,004% (p/v).

Après l'agitation, les tubes sont placés à l'obscurité à une température ambiante pendant 30 min pour l'incubation. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. Ces mêmes conditions ont été préparées avec le control positif qui est représenté par une solution d'un antioxydant standard : l'acide ascorbique (1mg/ml). Pour chaque concentration le test est répété trois fois, dans ce test le DPPH qui est de couleur violette se réduit en un composé jaune. L'activité antioxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$AA = \frac{[Abscontrol - Abs\ test]}{Abs\ control} \times 100$$

AA : Activité antioxydante, Abs : absorbance à 517nm.

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement à l'aide de la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres et *al.*, 2006).

3. Résultats et Discussion

3.1. Les rendements obtenus

Les rendements calculés des huiles essentielles extraites à partir des différentes plantes étudiées à savoir : *Mentha rotundifolia*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle* sont respectivement : (1.86% ,1.77% ,1.70%,2 .04% et 1.65%) (Tableau 21).

Tableau 21 : Rendements en huile essentielle

H E	<i>M. rotundifolia</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S.molle</i>
R	1.86%	1.77%	1 .70%	2.04%	1.65%

- Le rendement d'huile de *Mentha rotundifolia* déterminé est supérieure à celui de Bounihi (2016) obtenu au Maroc et qui est de l'ordre de 1.56 % par contre il est inférieur à ceux de (Righi et al., 2017; Benazouz, 2012; Brada et al., 2007) qui révèlent des rendements de 0.32, 0.93, et 0.8%, respectivement .
- L'huile essentielle de *Satureja calamintha* a donné un rendement qui se rapproche de celui obtenu par Khenaka, (2011) et qui est de 1.78% par contre il est supérieur à celui obtenu par (Righi et al., 2017) (0,35%).
- En Italie Mafferi, (1990) a enregistré un rendement de 1, 6 % pour *Schinus molle* tandis que celui de Seladjii (2014) varie entre 0,6 à 0,9%. En Algérie, Belhamel (2008) et Rouibi et al., (2010) ont enregistré respectivement des rendements maximaux de (2,11% et 2 ,22%.)
- Pour *Mentha pulegium*, El Ouali laalmi et al., (2013) ont enregistré un rendement de 0 ,78% au Maroc tandis qu'Abou et Fareh (2017) ont enregistré un rendement de 0,64% en Algérie. Ces deux rendements sont bien inférieurs par rapport aux nôtres.
- Nos résultats obtenus pour *Thymus vulgaris* (2.04%) sont très importants par rapport à ceux obtenus par (Hasani et al.,2017) qui ont enregistré (1.18%), (Bouguerra et al.,2017) (1,58%) et (El Akhal et al., 2014) (1%) au Maroc.

Cette différence dans les rendements peut s'expliquer par le fait que les valeurs ont été calculées sur la base du poids sec des échantillons. Les conditions environnementales, climatiques, géographiques, la période de récolte et la technique de distillation influent sur le rendement en huile essentielle (Lahlou, 2004).

3.2. Caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) permettent d'évaluer la qualité d'une huile essentielle. Les extractions des parties aériennes des plantes médicinales étudiées appartenant à la famille des lamiacées et des anacardiées fournissent des huiles essentielles qui sont volatiles et de couleur jaunâtre, en revanche la différence dans l'odeur des huiles essentielles a été remarquée avec une odeur caractéristique pour chaque huile.

En effet, L'huile essentielle de *Mentha pulegium* dégage une très forte odeur mentholée par rapport à celle extraite à partir de *Mentha rotundifolia* et *Satureja calamintha*. Pour *Thymus vulgaris* l'huile est jaune d'une odeur mentholée contrairement à *Schinus molle* qui est caractérisée par une odeur poivrée. Ces résultats corroborent à ceux obtenus par d'autres études et qui sont présentée dans le tableau 22.

Tableau 22: Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

sp	<i>M. rotundifolia</i>		<i>S. calamintha</i>		<i>M. pulegium</i>		<i>T. vulgaris</i>		<i>S. molle</i>	
HE	Présente étude	Benazouz, (2013)	Présente Etude	Benhamid et al.,(2018)	Présente Etude	Abou et Fareh (2017)	Présente étude	Hassani et al., (2017)	Présente Etude	Benoaie , (2013)
Odeur	Mentholée fraîche	Très forte	Fraiche	Fraiche	Mentholée fraîche	Forte Menthée	Forte	Piquante	Poivrée	Epicée poivrée
Apparence	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide	Liquide
Couleur	Jaune pale	Jaune pale	Jaune	Jaune pale	Jaune Pale	Jaune pale	Jaune	Jaune orangé	Transparente	Jaune transparente

3.3. Paramètres physico-chimiques.

La densité permet d'évaluer la naturalité des huiles essentielles. D'après les résultats consignés dans le tableau 23, nous avons enregistré une densité maximale de l'huile de *M pulegium* (929mg/ml) suivi par *T vulgaris* 915mg/ml, *S.molle* (880mg /ml) et 860mg/ml pour

S. calamintha. Les densités de *S. calamintha* et *M. rotundifolia* sont faibles par rapport aux autres plantes. Nous avons constaté que nos huiles sont denses et nos valeurs calculées se rapprochent à celles de plusieurs auteurs.

Le pH permet d'indiquer le degré d'acidité des huiles. Les résultats révèlent une acidité moyenne des huiles de *Mentha pulgium* (pH de 5.4), *S. molle* (pH de 04), *S. calamintha* (pH de 4.2), alors que celui de *M. rotundifolia* et de *Thymus vulgaris* est respectivement de (5.6 et 5). Ces valeurs obtenues correspondent aux normes ce qui affirme la bonne qualité des huiles essentielles extraites au cours de notre expérimentation.

L'indice de réfraction est un paramètre important qui indique le degré de pureté des huiles essentielles. Nos résultats sont proches à ceux obtenus par d'autres chercheurs (Tableau 21).

Tableau 23: Paramètres physicochimiques des huiles essentielles

	<i>M. rotundifolia</i>		<i>M. pulegium</i>		<i>S. calamintha</i>		<i>T. vulgaris</i>		<i>S. molle</i>	
	Valeurs enregistrées	Abadlia et chabour, (2014)	Valeurs enregistrées	Bouhaddouda (2016)	Présente étude	Attou (2017)	Valeurs enregistrées	Abed et al. (2021)	Valeurs enregistrées	Belema ssoud (2013)
Densité mg/ml	0.810	0,887	0,929	0,878	0.860	0.912	0,915	0,79	0,880	0 ,8372
PH	5.6	6,92	5.4	6,64	4.2	6,65	5	6	4	6
Indice de réfraction	1.399	1,4800	1.480	1,46436	1.484	1.475	1.483	1,503	1.375	1,4917

3.4. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG / SM)

Les analyses chromatographiques de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* à permis d'identifier 362 composés dont les composants majoritaires sont : Carvacrol (36.61%), Gamma-Terpinene (2.99%), Carvomenthone (3.08%) et p-cimene (2.11%). (Tableau 24 Figure 25).

En comparant nos résultats avec ceux d'autres études sur la même espèce, nous avons remarqué que les parties aériennes de *Thymus vulgaris* sont très riches en plusieurs

constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, le séchage, le stockage et les méthodes d'études. Par ailleurs (Sid Ali et *al.*, 2016 ; Bouguerra et *al.*, 2017; Abdelli, 2017; Benabed et *al.*, 2018) ont montré que *Thymus vulgaris* est caractérisé par la prédominance de quatre chémotypes à savoir: Thymol, Carvacrol, p-cimene et Gamma-Terpinene.

L'analyse chromatographique réalisée par Righi et *al.* , (2017) sur *Mentha rotundifolia* , *Satureja calamintha* et *Schinus molle* à permis d'identifier plus de 70 composants chez *Mentha rotundifolia* dont les composants majoritaires sont le Piperitenone oxide (49,96)% et le Silane, tetra-1-propynyl (14,68)%.

Chez *Satureja calamintha*, 62 composés dont la prédominance est pour le Thymol (25,6%), le borneol (32,1 %) et le pulegone (35 %) et concernant *Schinus molle* 74 composants dont les composants majoritaires sont Alpha terpineol (16,05%) et (Terpinen 15,84%).

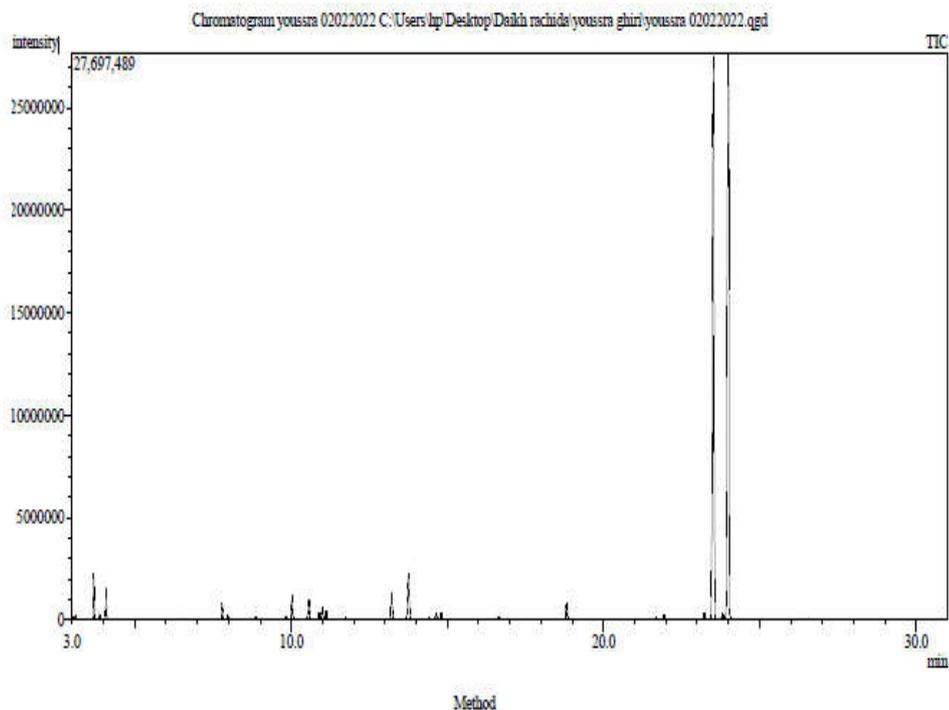


Figure 25 : Chromatogramme GC/MS de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*

Tableau 24 : Composition chimique de *Thymus vulgaris*

Surface	(%)	Constituant
0.04	0.11	1-p-Menthene
0.15	0.29	Eucalyptol
1.56	2.99	Gamma-Terpinene
1.15	2.11	p-cimene
0.75	1.08	Vinyl amyl carbinol
0.22	0.29	4-Thujanol
0.18	0.15	beta-Bourbonene
0.22	0.25	4-Thujanol
0.37	0.44	Anisole, 2-tert-butyl-5-methyl
0.79	0.88	Terpinen-4-ol
0.44	0.54	2-Isopropyl-4-methylanisole
0.12	0.10	Humulene
3.29	3.08	Carvomenthone
39.12	36.61	Carvacrol

3.5. Criblage phytochimique des plantes

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires des plantes étudiées. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et le changement de couleur. Les résultats des tests réalisés sont représentés dans le tableau 25.

Le signe (+) indique la présence de composé chimique, (++, +++) traduisent la présence en quantité supérieure au seuil de détection du composé et le signe (-) l'absence du composé chimique.

Il en ressort que les extraits de *M. rotundifolia*, *M. pulegium* et *T. vulgaris* sont très riches en flavonoïdes mais moyennement détectées dans les extraits de *S. calamintha* et *S. molle*.

Les tanins, les quinones libres et les anthocyanes sont fortement présents dans les extraits de *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle* et de même pour les hétérosides cardiotoniques.

La réaction de turbidité ou de précipitation confirme la présence des alcaloïdes en petite quantité dans tous les extraits. On note l'absence des coumarines dans l'extrait de *Thymus vulgaris* mais ils sont présents dans les autres extraits aqueux en faible quantité.

Pour *S calamintha* l'étude de Bougandoura et Bendimrad, (2013) ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides et des coumarines. Ainsi les résultats des tests phytochimiques de *S molle* réalisés par plusieurs chercheurs ont démontré la présence des métabolites secondaires à savoir : les tanins, saponosides, alcaloïdes, flavonoïdes et polyphénols avec une présence moyenne de Terpénoïdes (Bella, 2018). Plusieurs groupes de métabolites secondaires sont présents dans l'extrait de *M rotundifolia* réalisé dans l'étude menée par Ferdjioui (2014) et Bounihi (2016) il s'agit d'antraquinone, de polyphénols, de flavonoïdes et des tanins.

Tableau 25: Screening phytochimique des plantes médicinales.

Plantes	<i>Mentha rotundifolia</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Satureja calamintha</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Schinus molle</i>
Flavonoïdes	++	+++	++	+++	++
Tanins	+++	+++	+++	+++	+++
Quinone libre	+++	+++	+++	+++	+++
Anthraquinones	+	+	++	+	++
Anthocyanes	+++	+++	+++	++	+++
Saponosides	+	+	+	+	++
Hétérosides Cardiotoniques	+++	+++	+++	+++	+++
Glycosides Cardiaques	++	++	++	+	++
Coumarines	+	+	++	-	+
Terpénoïdes	+	++	+++	++	++
Alcaloïdes	+	+	+	+	+

Les résultats du criblage phytochimique de *T vulgaris* réalisé par (Tameret et *al.*, 2017; Boukerika et *al.*, 2019) illustrent la présence des substances ayant de grandes valeurs thérapeutiques dont les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes. D'après Bouhaddouda, (2016) *M pulegium* paraît plus riche en flavonoïde, en tanins, en saponosides et en anthocyanes.

3.6. Activité antioxydante

L'activité anti radicalaire des huiles essentielles des cinq plantes médicinales étudiées ainsi que le standard (vitamine C) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce qui s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 26 et représentés par la figure 26 .

Tableau 26 : Concentration inhibitrice de 50% des huiles essentielles

	<i>A asc</i>	<i>M.Pulg</i>	<i>M.rotun</i>	<i>S.calam</i>	<i>T.vulg</i>	<i>S.molle</i>
IC50	7,4951	4,7725	3,2274	7,3181	4,7124	4,7275

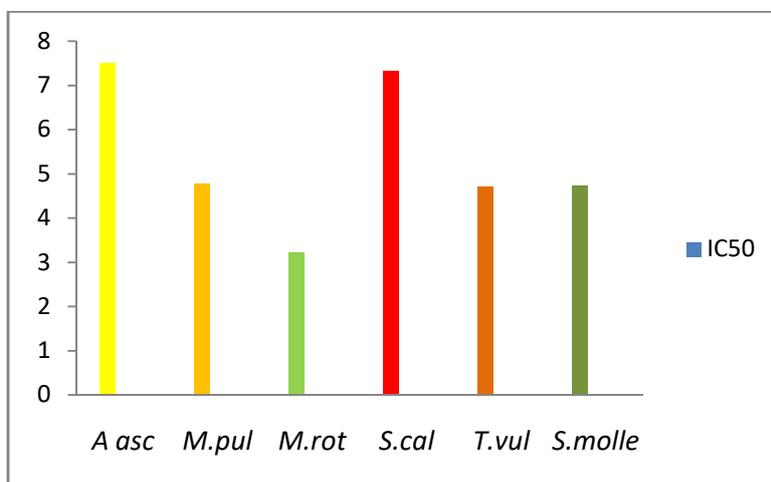


Figure 26: Pouvoir antioxydant des plantes médicinales

D'après les résultats obtenus, l'huile essentielle qui a marqué une maximale concentration d'inhibition et celle de la plante *M rotundifolia* suivi par *T. vulgaris*, *S. molle*, *M. pulegium* et *S. calamintha* par rapport au standard acide ascorbique. Les IC50 sont

inversement proportionnelles à l'effet dont les valeurs faibles reflètent un effet anti radicalaire important (Villano et *al.*, 2007)

Benaazouz et *al.*, (2012) ont enregistré des valeurs d'IC50 de $6,765 \pm 0,147$; $7,113 \pm 0,012$ pour *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* respectivement.

Les travaux concernant l'évaluation de la capacité d'huile essentielle du genre *Mentha* de piéger le radical DPPH exprimée par les valeurs d'IC50 ont donné des résultats différents variants d'une espèce à une autre à savoir (*M. longifolia ssp* (IC50 = 10700 ± 5.0 µg/ml), (Gulluce et *al.*, 2007) ; *M. piperita* (IC50 = 60.41 ± 0.60 µg/ml) (Kizil et *al.*, 2010) ; *M. pulegium* (IC50 = 6200 ± 0.2 µg/ml) (Teixeira et *al.*, 2012) et (Ismaili et *al.*, 2017) ont enregistré une concentration de $4,57 \pm 0,80$ pour *T. Vulgaris*.

Pour *Satureja calamintha*, Bougandoura et Bendimerad, (2012) ont montré une faible activité anti radicalaire avec une valeur d'IC50 de 2075 µg/ml. La différence dans les valeurs des IC50 peut être attribuée à la différence dans la concentration de DPPH utilisée dans le test et le temps d'incubation d'une part et à l'influence des autres facteurs intrinsèques et extrinsèques qui peuvent affecter la composition chimique des plantes d'autre part (Sharma et *al.*, 2009). Globalement nous constatons donc que nos plantes possèdent une très bonne propriété antioxydante

CHAPITRE IV EVALUATION DES METHODES DE LUTTE

**Matériels et Méthodes
Résultats et Discussion**

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

1. Introduction

La protection des céréales contre les ravageurs des stocks est d'une grande importance pour la survie de l'homme. Il importe donc de rechercher des stratégies de lutte pour venir à bout de ce fléau. Dans le but d'apporter des solutions contre de tels ravageurs, nous avons tenté l'utilisation d'une stratégie de lutte intégrée qui regroupe plusieurs méthodes à savoir : une lutte biologique par l'utilisation des plantes médicinales et par l'utilisation d'un champignon entomopathogène, une lutte physique par l'utilisation de la température (minimale et maximale) et une lutte chimique par l'utilisation d'un produit chimique.

2. Matériels et Méthodes

2.2. Lutte biologique par utilisation des plantes médicinales

2.2.1. Etude de l'effet insecticide des huiles essentielles

➤ Test par contact sur les adultes

Le test biologique réalisé pour permettre cette étude consiste à introduire un lot de dix insectes adultes de *Tribolium confusum* et de *Sitophilus oryzae* mâles et femelles chacun dans des boîtes de pétri (9cm de diamètre) contenant chacune 0.4 g de substrat de farine pour *Tribolium confusum* et 0,4 g de substrat de riz pour *Sitophilus oryzae*. Chaque lot est traité avec une huile essentielle des différentes plantes testées à savoir (*Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*) à quatre différentes doses (5, 10, 15, et 20 µl /ml) de solution acétonique d'huile essentielle. Une dose de 3µl/ml est utilisée pour *Mentha rotundifolia* uniquement. Ces doses sont dispersées d'une manière homogène dans les substrats de chaque boîte de pétri. Le nombre des insectes morts est enregistré après quatre jours. Le traitement de la mortalité (Mo) chez les insectes traités est exprimé selon la formule d'Abbot (1925). La mortalité corrigée (Mc) tenant compte de la mortalité naturelle observée dans les boîtes témoins (Mt): **$Mc = Mo - Mt / 100 - Mt \times 100$** .

Notons que pour chaque plante testée et chaque dose, nous avons réalisé quatre répétitions en présence d'un lot témoin.

➤ Test par contact sur les chrysalides de *Tribolium confusum*

Pour évaluer l'efficacité des huiles essentielles pour ce stade, nous avons introduit des mâles et femelles séparés dans des boîtes de Pétri. Chaque lot renferme dix chrysalides. Chaque lot est traité pour chaque plante par les doses suivantes (5µL/ml, 10,15 et 20µl/ml)

Cette expérience est répétée quatre fois en présence d'un lot témoin n'ayant subi aucun traitement.

➤ Test de répulsion

Le procédé du test insecticide utilisé pour cette étude est celui rapporté par Mc donalds et *al.*, (1970). Dans des boîtes de Pétri (9cm de diamètre) tapissées d'un papier filtre divisé en deux parties, quatre doses de chaque plante étudiée (5, 10,15 et 20 µl/ml) sont pulvérisées sur une partie du papier, alors que l'autre partie du papier est laissée sans traitement. Dix insectes de *Tribolium confusum* et 10 de *Sitophilus oryzae* ont été placés dans le centre du papier (Figure 27). Au bout de deux heures de l'essai, le nombre d'insecte présent sur la partie de papier filtre traitée à l'huile essentielle (**Nt**) et le nombre de ceux présents sur la partie qui n'a subi aucun traitement (**Nc**) ont été relevés. Le pourcentage de répulsion (**PR**) a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$PR\% = Nc - Nt \times 100$$

Le pourcentage moyen de répulsion pour l'huile essentielle a été calculé et attribué selon le classement de McDonald. À l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V:

Classe 0 (PR < 0,1%). Classe III (PR = 40,1 – 60%).

Classe I (PR = 0,1 – 20%). Classe IV (PR = 60,1 – 80%).

Classe II (PR = 20,1 – 40%). Classe V (PR = 80,1 – 100%).

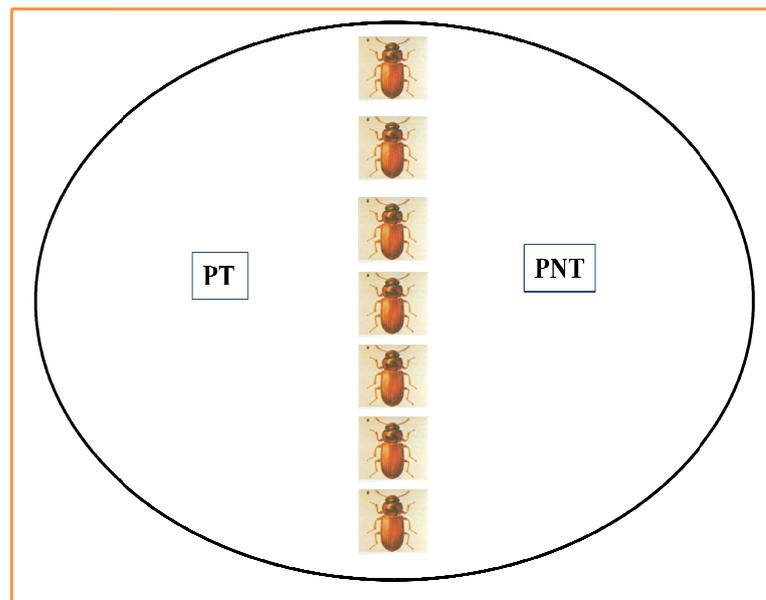


Figure 27: Model du test de répulsion des huiles essentielles sur les deux insectes

2.2.2. Etude de l'effet insecticide des poudres

Dix individus adultes mâles et 10 femelles de *T. confusum* et de *S. oryzae* sont introduits dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant chacune 0.4 g de farine de blé pour *Tribolium confusum* et 0,4 g de riz pour *Sitophilus oryzae* imprégnées avec des poudres de chacune des plantes testées aux différentes doses choisies (0.8; 0.9 et 1g). Les expériences sont réalisées en présence d'un lot témoin et répétées quatre fois.

2.3. Lutte biologique par utilisation d'un champignon entomopathogène

Le biocontrôle de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae* par un champignon entomopathogène « *Beauveria bassiana* » a été mené au niveau du laboratoire d'entomologie du département de protection des végétaux Isparta Turquie.

Pour cette étude, le choix de la dose tient compte de la dose du même isolat et des mêmes conditions utilisées dans d'autres recherches qui ont déjà démontré leur effet à l'égard des d'autres ravageurs.

2.3.1. Préparation de l'inoculum

La souche fongique de *Beauveria bassiana* a été obtenue à partir du département de protection des plantes de l'université Suleyman Demirel, Turquie. Les cultures ont été maintenues sur une gélose Sabouraud Dextrose (SDA) à 4 °C. Après avoir été grattées avec 10 ml d'eau stérile contenant 0,05 % de Tween 80, la suspension sporale a été ajustée à la concentration désirée (10^7 conidies/ml) et comptée avec la cellule de Malassez.

2.3.2. Application du champignon entomopathogène sur les deux insectes

➤ **Sur les adultes:** Dans des boîtes de Pétri (9cm de diamètre) contenant un substrat de farine de blé, une dose de 1×10^7 conidies/ml a été testée par pulvérisation à une distance de 30 cm à l'aide d'un pulvérisateur manuel sur des lots mâles et femelles. Chaque lot renferme dix individus de chaque insecte (*Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*) tandis que les adultes témoins ont été traités avec de l'eau distillée stérile à 0,3 % de Tween-80. Les boîtes ont été conservées à la température ambiante de 25°C. Chaque essai consistait en 4 répétitions. La mortalité des individus a été estimée durant les quatre jours après le traitement.

➤ **Sur les larves de *Tribolium confusum***

Nous avons réalisé ce test sur les larves du 3^{em} stade larvaire de *Tribolium confusum*, les mêmes démarches expérimentales précédentes sont suivies

2.4. La lutte chimique

Pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet insecticide, des boites de Pétri contenant les deux substrats pour chaque insecte (*Triobolium confusum* et *Sitophilus oryzae*) sont préparés. L'extrait Me-4,N-naphtyl-imino-2,N'-tolyl-3,delta-4Thiazoline obtenu à partir de département de chimie de l'université de Mustapha Stambouli, Mascara a été testé pour la première fois pour son activité insecticide.

A partir d'une solution mère, des concentrations de 2,4 et 8µg/ml de l'extrait sont pulvérisées d'une manière homogène sur les substrats se trouvant dans les boites où un lot de dix individus adultes mâles et femelles est introduit dans chacune d'elle .Ce test est réalisé en présence d'un témoin n'ayant subi aucun traitement

Quatre répétitions ont été effectuées pour chaque dose. Le suivi de la mortalité des insectes a été réalisé pendant 96H.

2.5. La lutte physique par utilisation de la température

Dans le but d'éradiquer les insectes dans les céréales d'une manière physique, une expérience a été conduite au niveau du laboratoire d'entomologie de la faculté SNV. Ce type de lutte s'articule dans la plupart des cas sur l'utilisation des basses et hautes températures.

2.5.1. Les basses températures

Cette technique consiste à placer un lot de 20 individus de chaque insecte (*Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*) séparément dans des boites contenant chacune 1g de substrat de farine et de riz, l'ensemble est placé dans une étuve réglée à des températures qui varient entre (0°C,-2°C et -4°C). Quatre répétitions pour chaque température testée sont réalisées et le control de la mortalité étant quotidien.

2.5.2. Les hautes les températures

Le même dispositif expérimental est utilisé que précédemment, ce test consiste à un passage et une élévation de température d'une valeur moyenne pour le développement des deux insectes à des valeurs maximales suivantes : 37 °C, 40°C, 45°C et 50°C. Quatre

répétitions pour chaque température testée sont réalisées et le control de la mortalité étant quotidien

2.6. Etude de la faculté germinative des graines

Afin d'évaluer l'effet des traitements par les huiles sur le pouvoir germinatif des graines. Cent graines saines de blé sont triées puis désinfectées par l'eau de javel, après la désinfection, elles sont placées dans des boites de Pétri (9cm de diamètre) contenant du coton imbibé d'eau distillé pour assurer l'humidité. Les graines sont ensuite imprégnées avec des différentes doses des huiles essentielles qui ont déjà marqué un effet insecticide sur les deux espèces. Un lot de 100 graines de blé ne recevant aucun traitement est étudié comme témoin.

Après huit jours de germination, nous avons procédé au dénombrement des graines germées et nous avons calculé le taux de germination par la formule suivante ;

Taux de germination = (Nombre de graines germées/Nombre total de graines 100)*100.

2.7. Analyses statistiques

Les différents paramètres étudiés pour les activités bios insecticides vis-à-vis les deux ravageurs sont soumis à une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification $P=0,05$ en utilisant l'Excel.

3. Résultats et Discussions

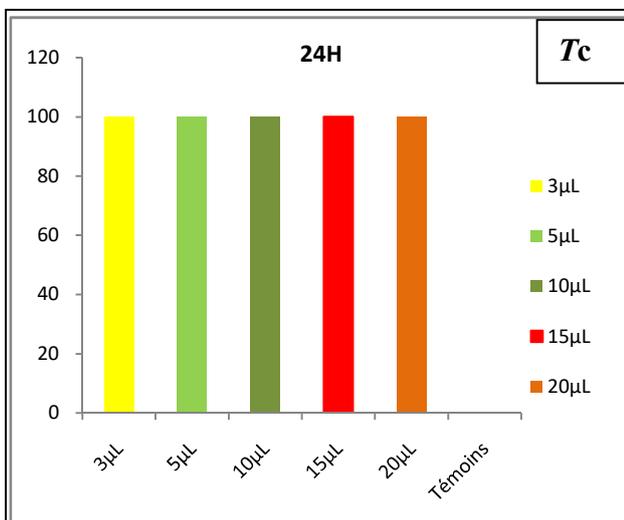
3.1. Lutte biologique par utilisation des plantes médicinales

3.1.1. Etude de l'effet insecticide des huiles essentielles

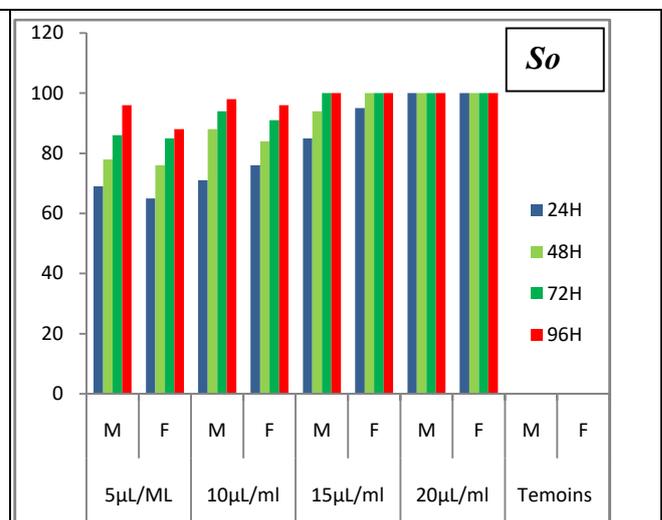
- **Test par contact sur les adultes**

La variation du taux de mortalité cumulé des adultes de *T. confusum* et *S. oryzae* en Fonction du temps d'exposition, la plante utilisée, le sexe et la dose est illustrée par les différentes figures (28 à 36).

- L'huile de *M. rotundifolia* exerce une action hautement significative sur la longévité des adultes mâles et femelles de *T. confusum*. A la plus faible dose utilisée (3µl), la mortalité des adultes atteint les 100% au moins de 24 heures de l'application. En appliquant les faibles doses sur les adultes de *S oryzae*, nous avons remarqué que le taux de mortalité des adultes évolue progressivement pour atteindre 100% à la dose de 20µl/ml après 72 heures du traitement (Figures 28 et 29). L'analyse de la variance révèle un effet significatif Avec : F calculé = 0,1683 et F Théorique = 2,866. Aucune mortalité n'a été enregistrée dans les lots témoins pendant la durée d'exposition.

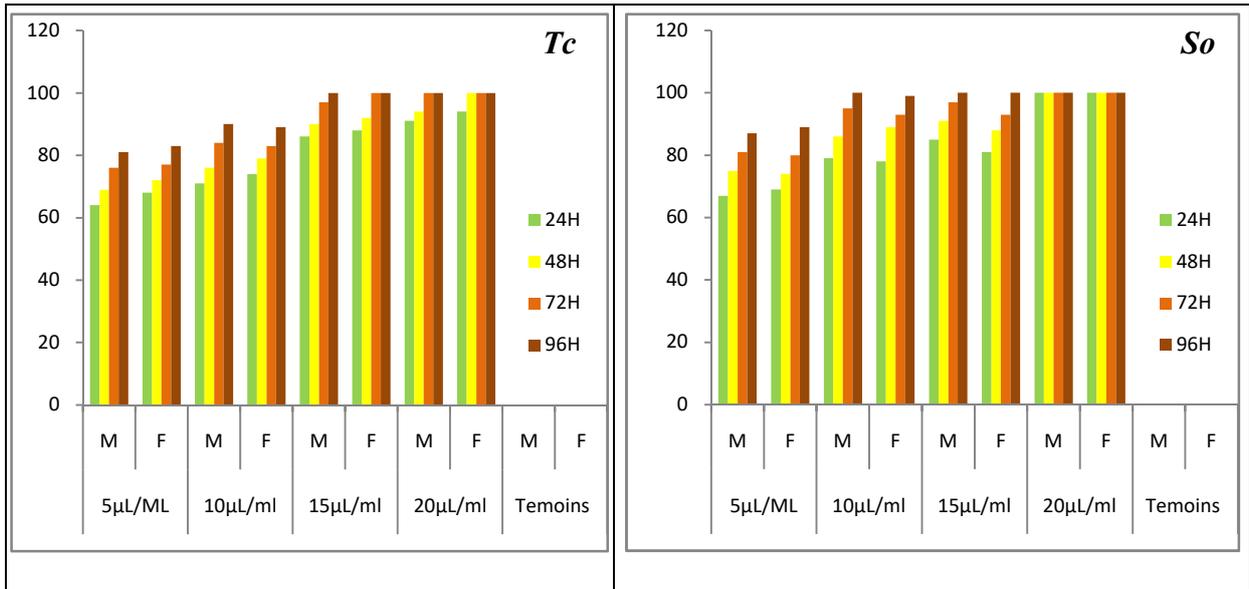


Figures 28 : Effet bio insecticide par contact de *Mentha rotundifolia* vis-à-vis de *Tribolium confusum* et

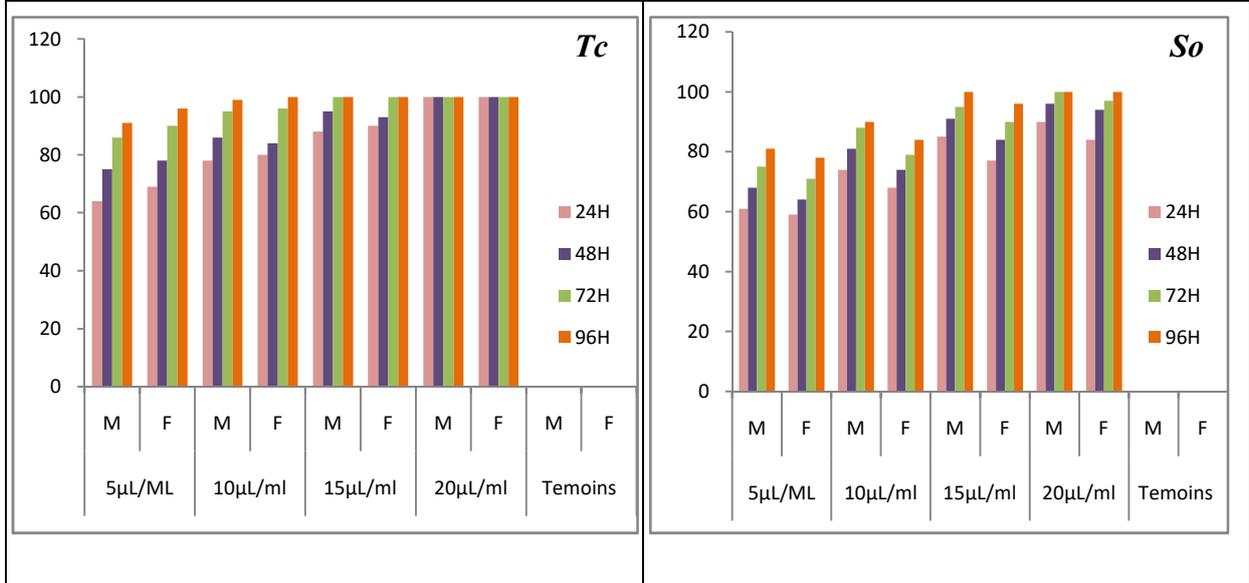


Figures, 29 : Effet bio insecticide par contact de *Mentha rotundifolia* vis-à-vis de *Sitophilus oryzae*

▪ L'huile essentielle de *Mentha pulegium* atteste un effet significatif par contact vis-à-vis des adultes de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*. À la plus faible dose 5µl/ml ,nous avons enregistré un taux de mortalité de 64 % chez les mâles et 68% chez les femelles de *Tribolium confusum* avec $F_{cal}= 0.158$ et $F_{Théo}=2.866$ et concernant les s mâles et les femelles de *Sitophilus oryzae*, des taux de mortalité respectives de 67et 69% sont notés avec $F_{cal}=0.163$ et $F_{Théo}=2,866$ (Figures 30, 31).



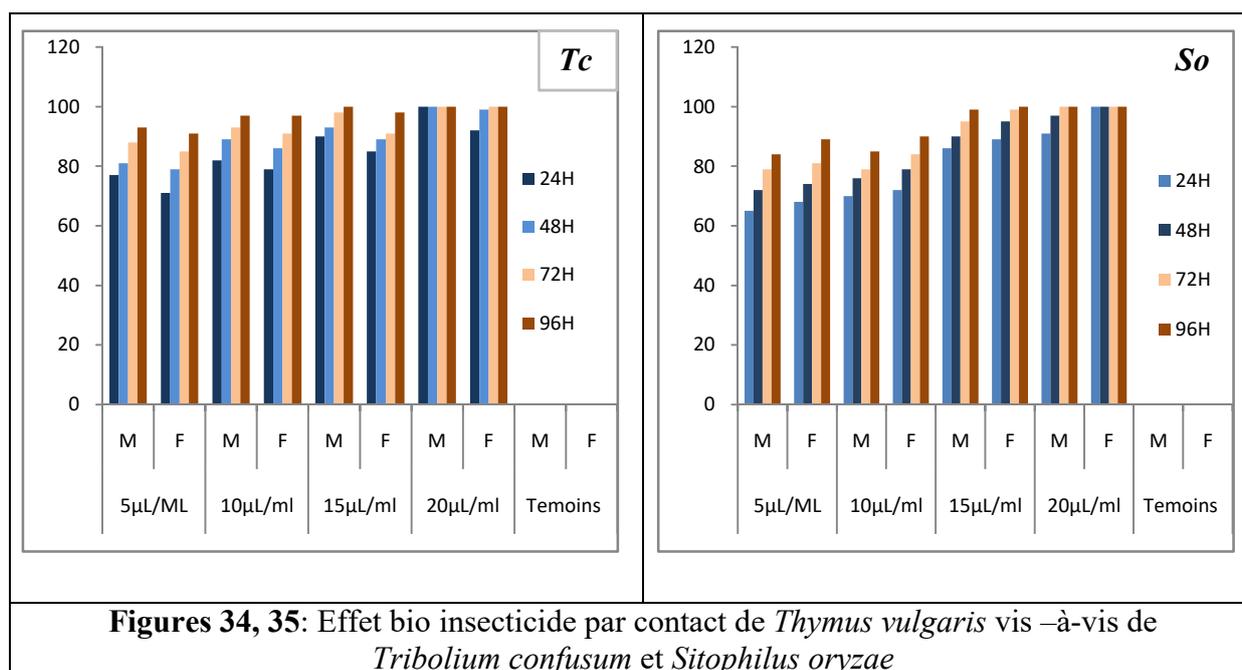
Figures 30, 31 : Effet bio insecticide par contact de *Mentha pulegium* vis-à-vis de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*



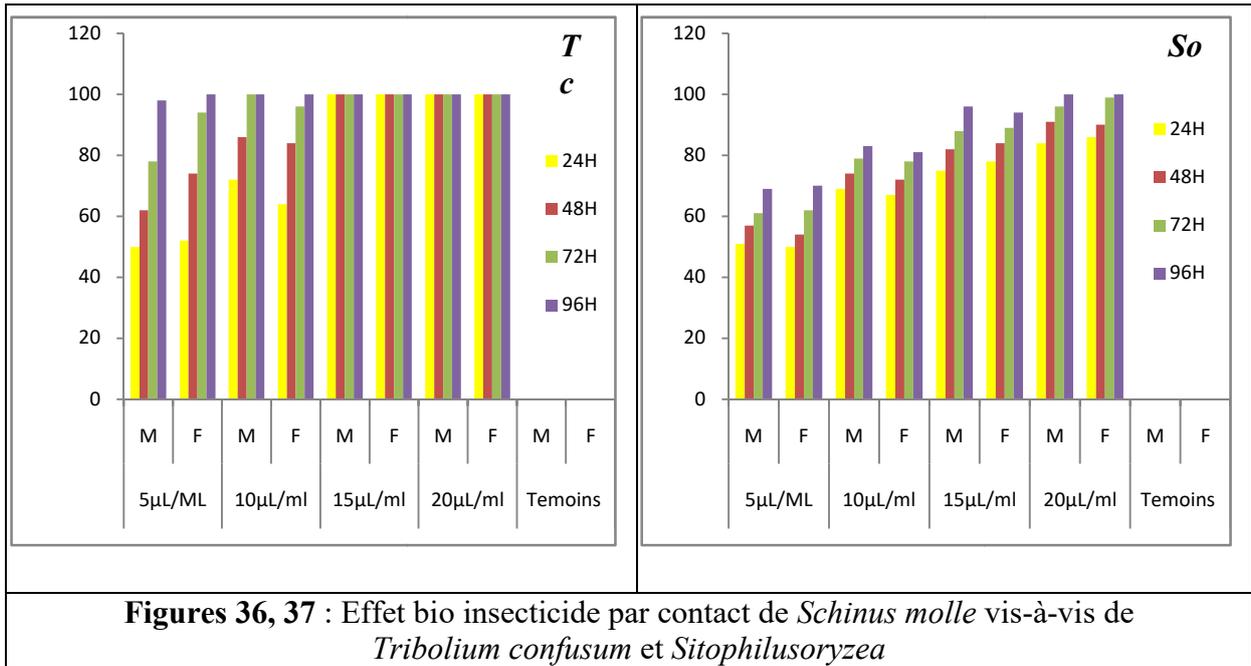
Figures 32, 33: Effet bio insecticide par contact de *Satureja calamintha* vis-à-vis de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*

▪ D'après les figures 32 et 33, nous avons remarqué que l'huile de *Satureja calamintha* engendre un taux de mortalité respectivement de 64 % et 69% pour les mâles et les femelles de *T. confusum* à la dose de 5 µl/ml et un taux de mortalité de 61% et 59% sur les adultes mâles et femelles de *S oryzae* durant les premières 24 heures d'exposition .Ce taux après trois jours atteint les 100%. L'analyse de la variance révèle un effet significatif avec F Cal = 0.182 et F Théo = 2.866 pour *T. confusum* et F Cal =0.182 et F Théo =2.866 pour *S. oryzae*.

▪ L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* témoigne d'une activité insecticide intéressante vis-à-vis des adultes de *T. confusum* et *S oryzae*. En effet, nous avons enregistré des taux de 77 et 71% respectivement chez les mâles et les femelles de *T confusum* à la dose de 5µl/mln ainsi que des taux de mortalité de 6 et 68% respectivement chez les mâles et femelles de *S oryzae* à la même dose (Figures 34, 35). F Cal =0.120 et F Théo =2.866 pour *T. confusum* et F Cal =0.144 et F Théo =2.866 pour *S. oryzae*.

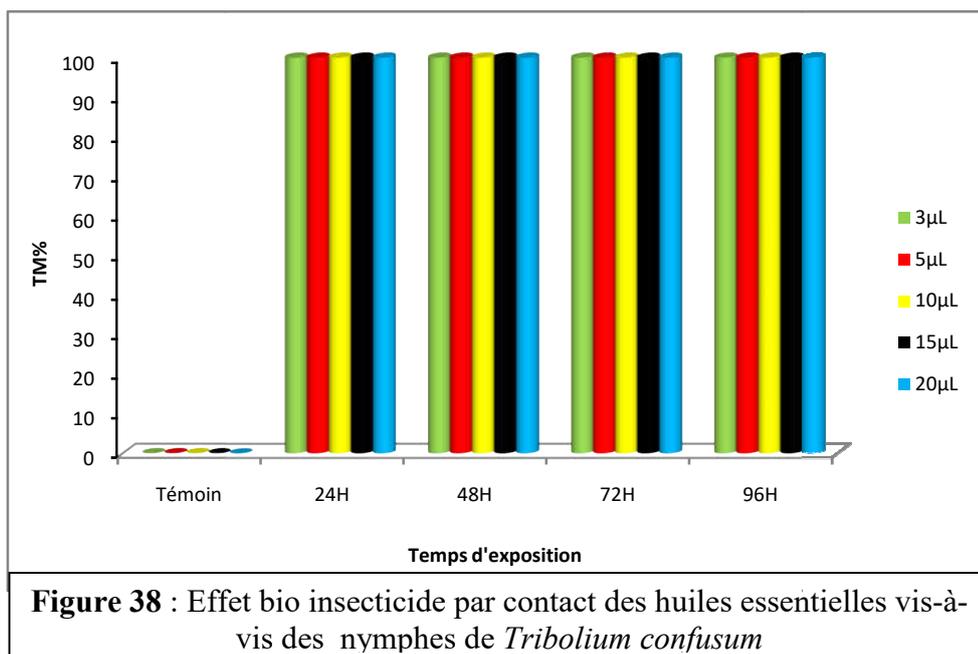


▪ L'huile essentielle de *S. molle* à 5µl/ml (la plus faible dose) provoque un effet biocide Remarquable dès les premières heures du traitement respectivement (50 et 62 %) des mâles et des femelles de *T. confusum* et de *S oryzae* soit des taux de (51et 50)% respectivement chez les mâles et les femelles (Figures 36, 37). L'analyse de la variance révèle un effet significatif avec F Cal = 0,336 et F Théo =2,866 pour *Tribolium confusum*, Fcal = 0 ,267 et F Théo=2,866 pour *Sitophilus oryzae*.



➤ **Test par contact sur les chrysalides de *Tribolium confusum***

L'application des différentes doses des huiles essentielles de (*Mentha rotundifolia* , *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*) à savoir (5, 10,15 et 20 µl/ml) et 3µl/ml uniquement pour *Mentha rotundifolia* sur les chrysalides mâles et femelles de *Tribolium confusum* ,nous montre que les huiles essentielles testées réduisent de façon hautement significative (p=0,005) la longévité des chrysalides au bout de 24h avec un taux de mortalité de 100%. Contrairement au témoin aucun taux de mortalité n'a été noté durant la période d'exposition (Figure 38).



L'utilisation des matières et des plantes pulvérulentes est un moyen de lutte qui fait l'objet de recherches de plus en plus poussées (Huang et al., 1999; Huignard et al., 2011). D'après Kemassi et al. (2019), la mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique.

La famille des lamiacées étant la plus efficace selon Regnault-Roger et Hamraoui (1994). Dans la présente étude, les cinq huiles essentielles manifestent une activité insecticide vis-à-vis des adultes de *Tribolium confusum* et de *Sitophilus oryzae* et les chrysalides de *T. confusum* par contact ce qui s'accorde avec les confirmations de plusieurs chercheurs citons (Righi, 2010; Butnariu et al., 2012; Benayad et al., 2012; Karahacen, 2015 ;Righi et al .,2017; Sehari, 2008; Baba-Aissa et al .,2021).

D'après Kim et al. (2003), les effets toxiques des huiles essentielles dépendent du ravageur, de l'essence testée et de la durée d'exposition. Des tests réalisés par Yahyaoui (2005) sur l'efficacité par inhalation et par contact des huiles essentielles de la menthe verte sur *Rhizoperta dominica* et *Tribolium confusum* ont montré qu'à la dose de 3,12% , l'huile essentielle agit pratiquement de la même manière sur les deux insectes avec 100% de mortalité. Ces résultats corroborent avec ceux de Benayad et al., (2012) au Maroc où *Mentha rotundifolia* c'est avérée trop toxique avec un taux de mortalité de 85% dès le premier jour d'exposition et 100% pendant le deuxième jour à la dose de 3µL.

A la faible dose de 3µL/ml, l'huile de *Mentha rotundifolia* provoque une mortalité de 100% après une durée de 24heures d'exposition ce qui correspond aux travaux de Righi et al., (2017) qui ont révélé que l'huile essentielle de *M. rotundifolia* est plus efficace sur *R. dominica* avec un taux de mortalité de 100 % à la dose de 3µL (effet hautement significatif avec $F_{Cal} = 3,49$ et $F_{Théo} = 0,74$). De leurs part Regnault-Roger et Hamroui (1994), rapportent que les huiles de sept plantes de la famille des Lamiacées ont été plus toxiques provoquant une mortalité de 100% après 1-4 jours d'exposition à faible dose soit $10^{-2}\mu\text{L}/\text{cm}^3$ sur la bruche *A. obtectus*.

Aliane et Imrazane (2020), montrent qu'à la plus faible dose (0,5µl), l'huile essentielle de *Mentha pulegium* provoque une mortalité totale des adultes de *Callosobruchus chinensis* après 24h d'exposition de même d'après Abdelli et al., (2018), la menthe pouliot provoque une mortalité de $97,44 \pm 0,59\%$ sur le charançon du blé *Sitophilus granarium*, après 7 jours d'exposition à la dose 2,5µl, et une mortalité de 100% après 24h aux doses 5, 10, 20 et 40µl.

Plusieurs chercheurs ont évalué les propriétés insecticides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* vis-à-vis des ravageurs des denrées stockées (Regnault-Roger et Abdelaziz, 1997) sur *Sitophilus oryzae*, Szczepanik et al. (2012) sur *Callosobruchus maculatus* ; Chekkal et Derradji (2015); Hassani et al., (2017); Park et al. (2017) et Habouchi et Djrourou (2018) sur *Tribolium confusum*).

Sagissant de la même plante, Righi et al., (2010) ont montré que l'huile essentielle du Thym provoque une mortalité de 100% des adultes de *C. chinensis* après uniquement une heure d'exposition à une dose de 10µl. Aussi Karahacane (2015) a testé l'huile de *T. vulgaris* contre les adultes de *Tribolium castaneum*, ses résultats ont indiqué que le taux de mortalité est de 96,66%± 1,2 avec une dose de 100µl et après 48heures de traitement. Selon Habouchi (2018), l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a provoqué une mortalité de 100% chez les pucerons verts.

Pour *Schinus molle*, dans les essais biologiques de toxicité par contact, Bekele et Hassanali (2001), ont appliqué les huiles essentielles des feuilles sur les adultes de *Rizopertha dominica*, Ils ont enregistré l'effet le plus élevé avec une DL50 de 0,88 mg/cm². Aussi l'utilisation des HE de la même plante sur les adultes de *Sitobion* a démontré une CL50 de 30,71 mg /ml après 24h de traitement (Descamps et al., 2010).

Lilian et al., (2011), ont démontré que les huiles essentielles et les extraits d'une Anacardiaceae *Schinus areira* ont une activité insecticide par contact et des bioessais de toxicité répulsive contre les larves et les adultes de *T. Castaneum*. Par ailleurs Righi et al., (2017) ont enregistré un taux de mortalité de 100% après le troisième jour de traitement avec la dose de 25 µl de *Schinus molle*. Il a été noté par Ferrero et al., (2007) que l'extrait à l'éthanol de *Schinus molle* avait un effet sur *Blattella germanica* L.

➤ Etude de l'effet répulsif des huiles essentielles

Les résultats des calculs du pourcentage de la répulsion des plantes testées sur les adultes de *T confusum* et *S oryzae* par la méthode de Mc Donald sont consignés dans le tableau 26. Il en ressort qu'après deux heures d'exposition, les huiles testées pour chaque plante avec les doses (5,10 ,15et 20 µl/ml) et 3µl/ml uniquement pour *Mentha rotundifolia* s'avèrent très répulsives vis avis des adultes de *S. oryzae* et *T. confusum*, Il est ainsi noté que le taux de répulsion augmente au fur et à mesure que l'on augmente la dose de l'huile utilisée.

Tableau 26 : Effet répulsif des huiles essentielles sur les adultes de *S oryzae* et *T confusum*

HE		3µL/ml	5µL/ml	10µL/ml	15µL/ml	20µL/ml	PR %
<i>S. molle</i>	Tc	/	76,5%	89%	96%	100%	90 ,37%
	So		88%	97%	100%	100%	96 ,25%
<i>S. calamintha</i>	Tc	/	78%	86%	95%	100%	89 ,75%
	So	/	76%	89%	97%	100%	90,50
<i>M. rotundifolia</i>	Tc	88,5%	95%	98%	100%	100%	96 ,3%
	So		96	100	100	100	99%
<i>M. pulegium</i>	Tc	/	97	100	100	100	99,25%
	So		94	98	100	100	98%
<i>T. vulgaris</i>	Tc	/	95%	100%	100%	100%	100%
	So		100%	100%	100%	100%	100%

Le caractère répulsif augmente en fonction de la dose de l'HE et le temps d'exposition. Ndomo et *al.*, (2009) rapportent qu'après deux heures d'exposition, les huiles des feuilles de *Callistemon viminalis* ont occasionné une répulsion dont le taux varie de 36.6 à 80 % vis-à-vis des adultes d'*A. obtectus* (Coleoptera: Brachidae). Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose.

L'effet répulsif de sept huiles essentielles testé par Nerio et *al.*, (2009) vis-à-vis de *S. zeamais* montre que six huiles essentielles ont une activité répulsive avec un effet plus marqué pour l'huiles extraite de *Lippiaori ganoides*.

Autres études antérieures ont également montré que le pouvoir répulsif peut servir comme méthode de lutte pour instance, Righi et *al.*, (2017) ont démontré les propriétés répulsives des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*, *Satureja calamintha* et *Schinus molle* contre *R. dominica*. Une répulsion de 100 % de l'huile essentielle de *M. longifolia* (L.) Huds a été observée contre *Sitophilus zeamais* par Odeyemi et *al.*, (2008) et une répulsion de 85 % de l'huile de *M. arvensis* L contre *C. chinensis* par Kumar et *al.*, (2009).

Nos propres résultats attestent que les huiles de *M. rotundifolia* avec (PR= 96,3% à 3µL/ml et *S. calamintha* avec PR=90,37% à 5µL/ml) s'avèrent très répulsives. Certaines études sur les propriétés insecticides et répulsives d'extraits de *S molle* chez différents insectes ont été publiées citons :(Ruffinengo et *al.*, 2005 ; Ferrero et Gonzales, 2006 ; Chopa et

al.,2006; Ferrero et *al.*, 2007 ; Bayramoglu et *al.*, 2008 ; Abdel-Sattar et *al.*, 2010 ; Righi et *al.*,2017).

Les résultats obtenus par Deveci et *al.* (2010), indiquent que l'huile essentielle extrait d'hexane de *S. molle* a marqué un effet répulsif remarquable vis –à-vis de *B. orientalis*.

D'après Abdel-Sattar et *al.*, (2010), Les fruits et les feuilles du faux poivrier ont montré des effets répulsifs et insecticides contre des insectes appartenant à d'autres ordres à l'instar de *Trigoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae) et *Tribolium castaneum* où le taux de mortalité enregistré était de 53,3% après 2 jours et 93,3% après 6 jours à la concentration de 1000 μ l 10ml⁻¹ avec des CI50 de 325,6 et 286,1 μ l 10ml⁻¹ respectivement).

L'efficacité insecticide des extraits de feuilles de *S. molle* a également été observée dans leur activité répulsive et anti-appétissante sur la mouche domestique *Musca domestica* (Wimalaratne et *al.*, (1996); Steinbauer et *al.*, (1995) dans leurs investigations ont démontré que la poudre des feuilles de *S. molle* avait un effet répulsif sur *Tribolium Confusum*.

3.1.2. Etude de l'effet insecticide des poudres

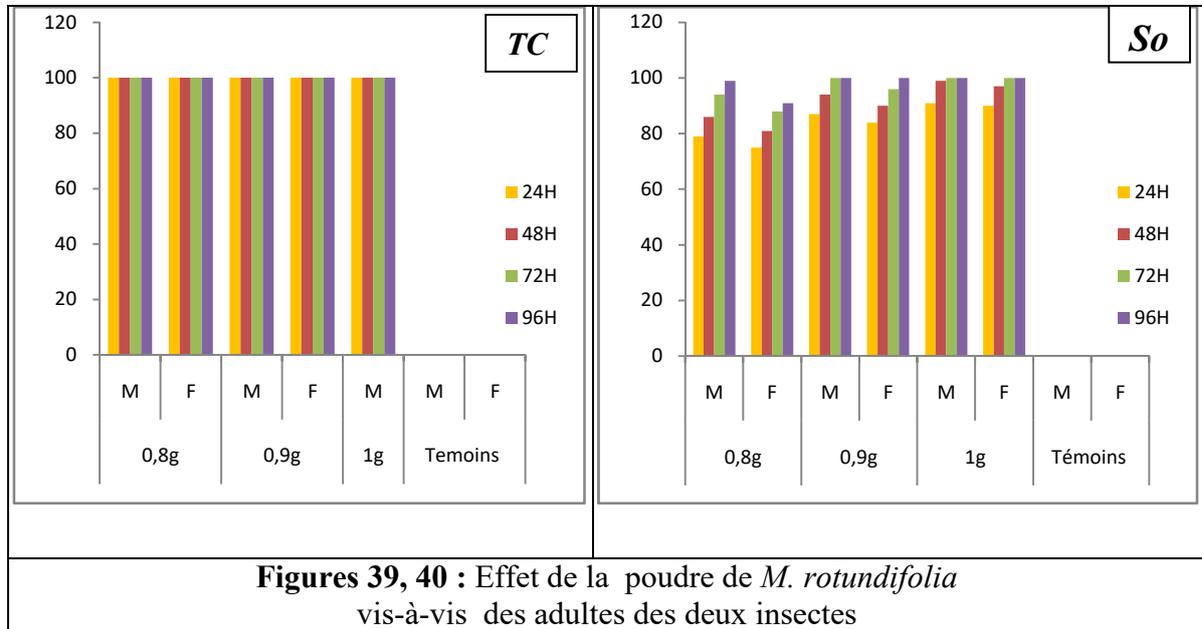
L'application des différentes doses des poudres à savoir (0.6g, 0.8 et 1g) sur les adultes mâles et femelles de *Tribolium confusum* et de *Sitophilus oryzae* durant les temps d'exposition (24h ,48h , 72h et 96h), nous a permis d'observer que :

- Les poudres des deux plantes (*Mentha rotundifolia* et *Satureja calamintha* réduisent significativement la longévité des mâles et des femelles de *Tribolium confusum* comparativement au témoin. L'efficacité est de 100% pour les deux plantes (Figures 39, 40).

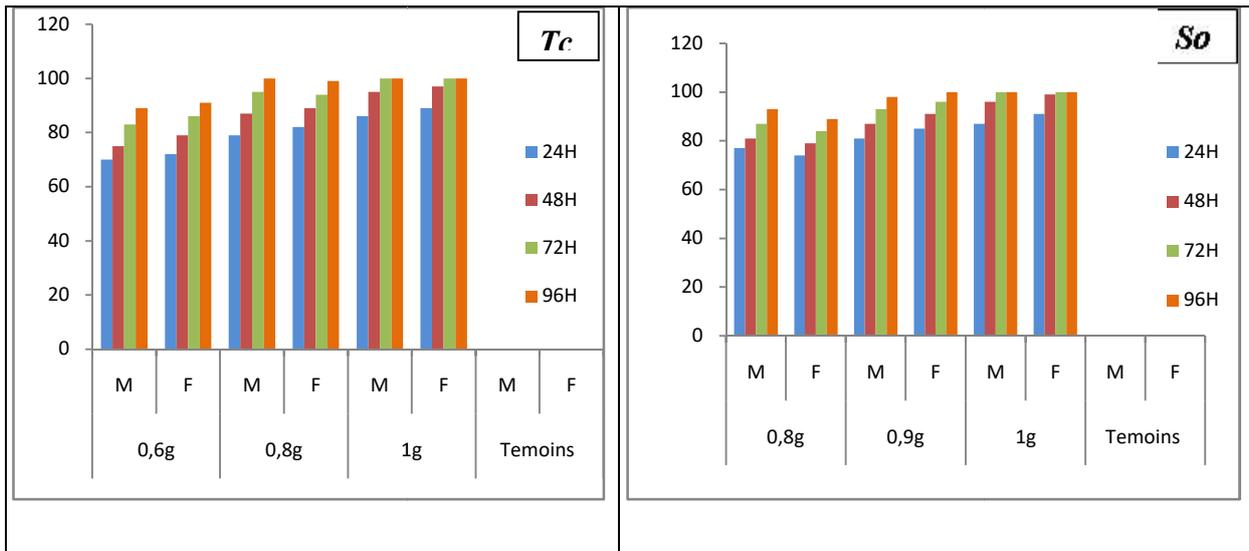
Notamment, la poudre de *Mentha rotundifolia* s'est révélée très actif sur les adultes de *Sitophilus oryzae* car la longévité des adultes subit une diminution importante à la faible dose (0.6g) avec un taux de mortalité de 79% chez les mâles et de 75% chez les femelles après 24h d'exposition et une mortalité des adultes de 100% est observée à la dose de 0.8g après 96h.

Selon le facteur dose en poudre, L'analyse de la variance montre une différence significative avec F Calculé= 0,09, F théorique = 2,946. Des observations similaires ont été enregistrées sur l'effet de la poudre de *Satureja clamintha* vis-à-vis des adultes de *Sitophilus oryzae*. La figure 44, indique que le taux de mortalité des adultes de *Sitophilus*

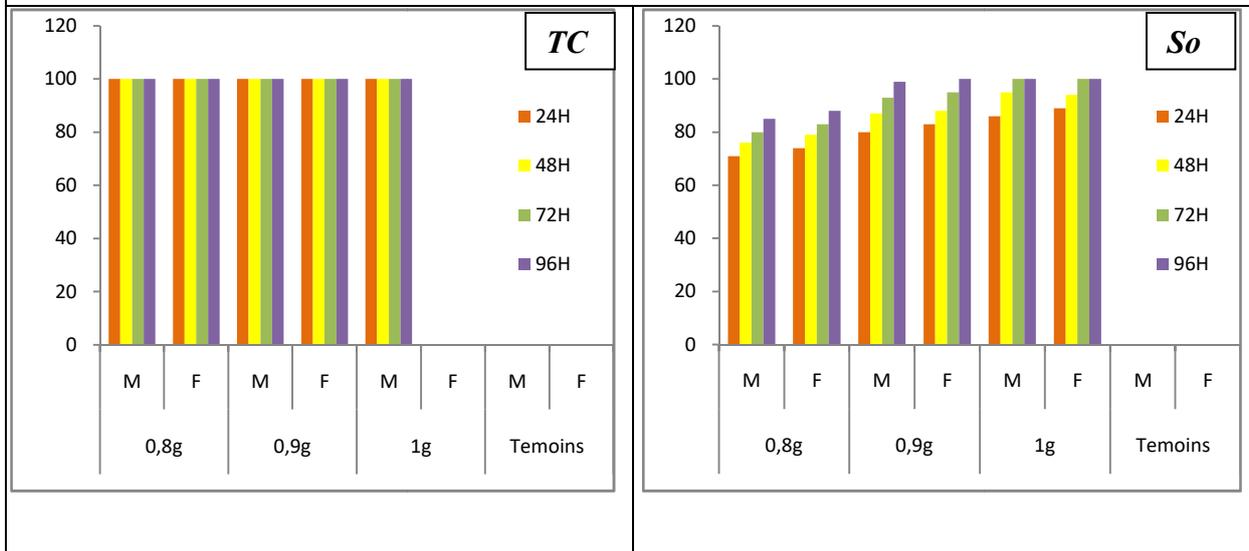
oryzae évolue proportionnellement avec les doses utilisées et la durée de leur exposition. Nous avons noté un taux de mortalité de 71% chez les mâles et 74% chez les femelles qui après trois jours atteint 100 % chez les deux sexes. L'analyse de la variance révèle un effet significatif avec: F Calculée = 0,109, F théorique = 2,946.



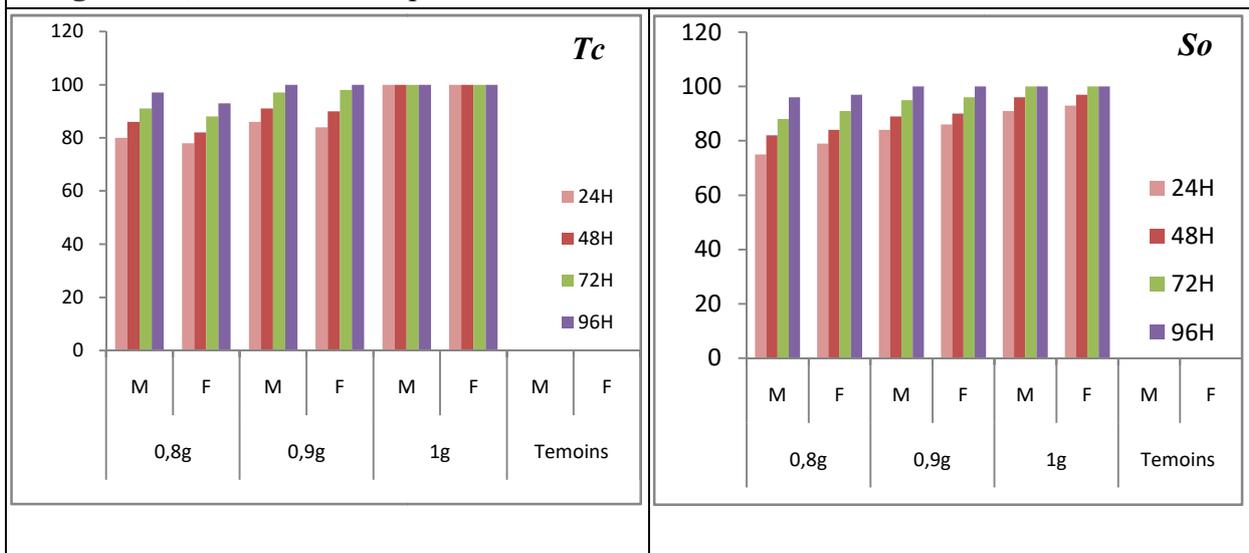
- De ce qui est de la poudre de *Mentha pulegium*, elle exerce un effet insecticide remarquable sur les adultes de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*, en effet au bout de 24h d'exposition à la dose de 0,6g, la mortalité des adultes enregistrée pour les mâles et les femelles de *Tribolium confusum* est respectivement 70 et 72% (Figure 41). Le taux de mortalité augmente rapidement dans les jours qui suivent pour atteindre 89% (mâles) et 90% (femelles). Tandis que pour *Sitophilus oryzae*, à la faible dose 0.6 g, nous avons enregistré des taux de mortalité de 77% chez les mâles et 74 chez les femelles. Au fur et à mesure que les doses s'élèvent les mortalités augmentent d'une manière progressive pour atteindre 100% respectivement pour les doses 0.8g et 1g. L'analyse de test ANOVA est significative pour la probabilité $P = 0,05$. F Calculé = 0,109, F théorique = 2,946.
- Les résultats des traitements effectués par les poudres de *T. vulgaris* sont illustrés par les figures 44 et 45 qui nous ont permis d'observer que le taux de mortalité des adultes de *T. confusum* et de *S. oryzae* évolue proportionnellement avec les trois doses utilisées et la durée de leur exposition. L'analyse de la variance L'analyse de test ANOVA est significative pour la probabilité $P=0,05$, avec : F Calculé=0,09 et F théorique=2,946 pour *Sitophilus oryzae* et F Calculée=0,04, F théorique=2,946 pour *Tribolium confusum*.



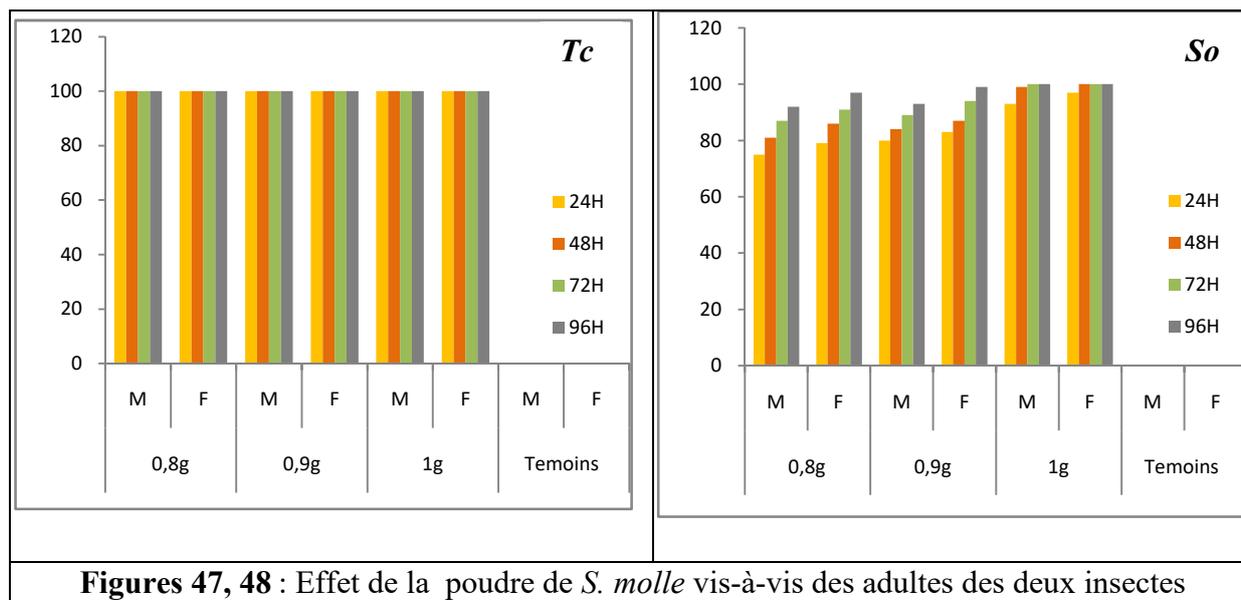
Figures 41, 42: Effet de la poudre de *M. pulegium* vis-à-vis des adultes des deux insectes



Figures 43, 44 : Effet de la poudre de *S. calamintha* vis-à-vis des adultes des deux insectes



Figures 45,46: Effet de la poudre de *T. vulgaris* vis-à-vis des adultes des deux insectes



- A la plus faible dose utilisée (0.6g), les adultes mâles et les femelles de *T. confusum* vivent moins de 24H dans les lots traités avec la poudre de *S. molle*. Le taux de mortalité atteint 100%. D'après les résultats obtenus (Figure 47), nous avons observé que la poudre exerce une action hautement significative sur la longévité de *T. confusum*. par comparaison aux témoins où nous n'avons enregistré aucun taux de mortalité. En ce qui concerne la deuxième espèce *Sitophilus oryzae*, les résultats enregistrés révèlent un taux de mortalité de 75 % chez les mâles et 79 % chez les femelles à la faible dose (0.6 g) dès les 24 heures (Figure 48). L'analyse de la variance ANOVA est significative pour la probabilité $P=0,05$ avec : F Calculé = 0,07 et F théorique=2,946.

Les poudres des feuilles des plantes aromatiques présentent un effet toxique sur les insectes comme ils peuvent agir en tant que barrière physique (Enobakhare, 2007).

Nos résultats concordent avec les résultats des travaux d'autres chercheurs qui ont mis en évidence l'effet insecticide de certains extraits des plantes sous forme de poudres vis-à-vis des ravageurs des graines stockées notons (Righi, 2010; Barbat et al., 2013; Kassemi, 2014; Bouchikhi tani, 2014 et Righi et al., 2017).

D'après Jacobson, (1989) la famille des Lamiacées a été considérée parmi les espèces les plus utilisées traditionnellement contre les bruches et autre coléoptères des denrées stockées. Selon Hassaine (2017), la poudre de *Schinus molle* présente un taux de mortalité de 50% sur *Rhyzoperta dominica* et 46% sur *Tribolium confusum*, de même selon Kassemi

(2014), les poudres des feuilles de *Nepeta nepetella* (Lamiacées) révèlent un effet insecticide vis-à-vis des adultes de *Rhyzoperta dominica* et *Tribolium castaneum* avec des taux de mortalité respectivement de 68,3% et 73,3%. Les travaux de Carpinella et al., (2003) ont montré que 30% de la dose en poudre de *Melia azedarachta* provoque un taux de mortalité des adultes de *T. castaneum* après une durée de 3 à 4 jours .

De même Abbassi et al., (2005), ont montré que les poudres des feuilles de *Peganum harmala* présentent un effet insecticide sur les individus de *Tribolium confusum* avec un taux de mortalité de 100 % à la dose 30%. Bouchikhi-Tani, (2011) a souligné que 0,6g de la poudre des feuilles de *Thymus capitatus* provoque une mortalité très importante de *Tineola bisselliella* en fonction des jours. Aussi Dwivedi et Shekhwat, (2004) ont noté des mortalités significatifs sur les insectes *Rhyzoperta dominica*, *Trogoderma granarium* et *Sitophilus oryzae* provoquées par la poudre de Neem (*Azadirachna indica*).

D'autres auteurs telque Epidi et Odili, (2009) avancent qu'avec la poudre des plantes *Telferia occidentalis*, *Zingiber officinale*, *Vitex grandifolia*, *Dracaena arborea*, la population de *Tribolium castaneum* a été complètement éliminée

Les travaux de Ziaee et Moharrampoura (2013), ont mis en évidence l'effet insecticide de la poudre de *C. cyminum* sur le *S. granarius* et *T. confusum* qui a enregistré un taux de mortalité de 50% après 5 et 7 jours d'exposition pour les deux espèces. Dans la même optique, Al-Moajel (2004) ; Arya et Tiwari (2013) qui ont démontré l'activité insecticide de la poudre de *Lawsoniainermis* sur *S.oryzae*, *S. zeamais* et le *T. granarium*.

Hadjou (2002) a aussi mis en évidence l'effet de la poudre de clou de girofle sur la descendance de *C. maculatus*, et cela en empêchant toute émergence à une faible dose de 0, 2%. En outre, les résultats obtenus par Goucem (2014), montrent que les poudres de Lamiacées (thym, sauge, menthe et basilic) exercent une activité insecticide sur *A. obtectus* notamment sur la viabilité des œufs.

3.2. Lutte biologique par utilisation de *Beauveria bassiana*

- **Sur les adultes**

Après les premiers jours d'application de *Beauveria bassiana* sur les adultes de *Tribolium confusum* et de *Sitophilus oryzae*, nous avons observé un mycélium blanchâtre de *Beauveria bassiana* entouré sur toute la surface des adultes des deux insectes

(Figures 49 , 50).Ainsi qu'une diminution de la longévité chez les adultes mâles et femelles des deux espèces a été observée.les résultats consignés dans le tableau 27 ont montré que *Beauveria bassiana* a engendré des mortalités avec un nombre de (8,75) allant à 10 individus contrairement au témoin aucune mortalité n'a été notée durant toute la période d'exposition.

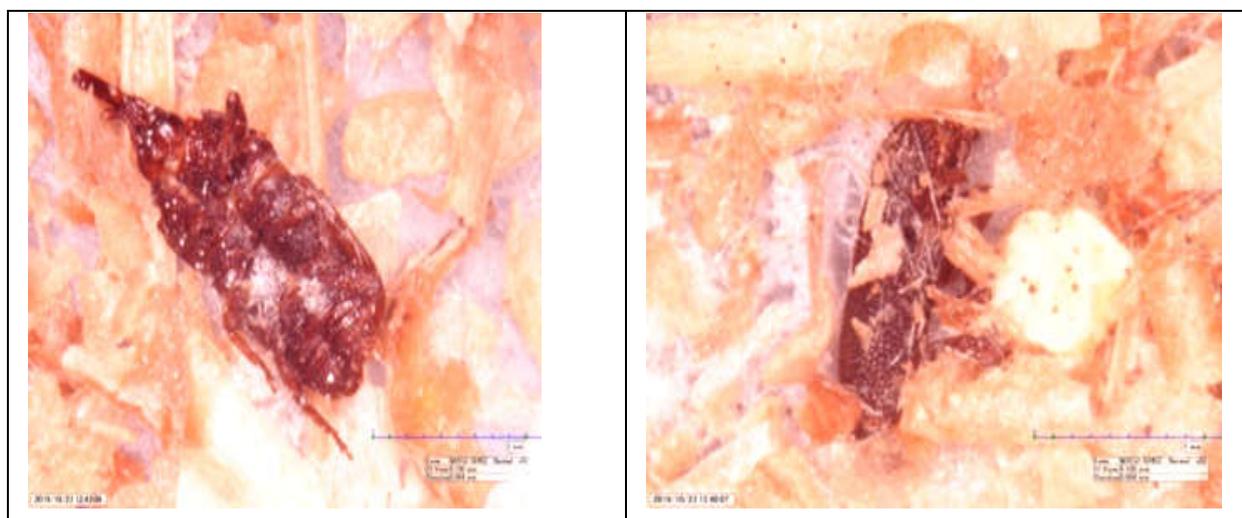


Figure 49: Effet de *Beauveria bassiana* vis-à-vis les adultes de *Sitophilus oryzae*

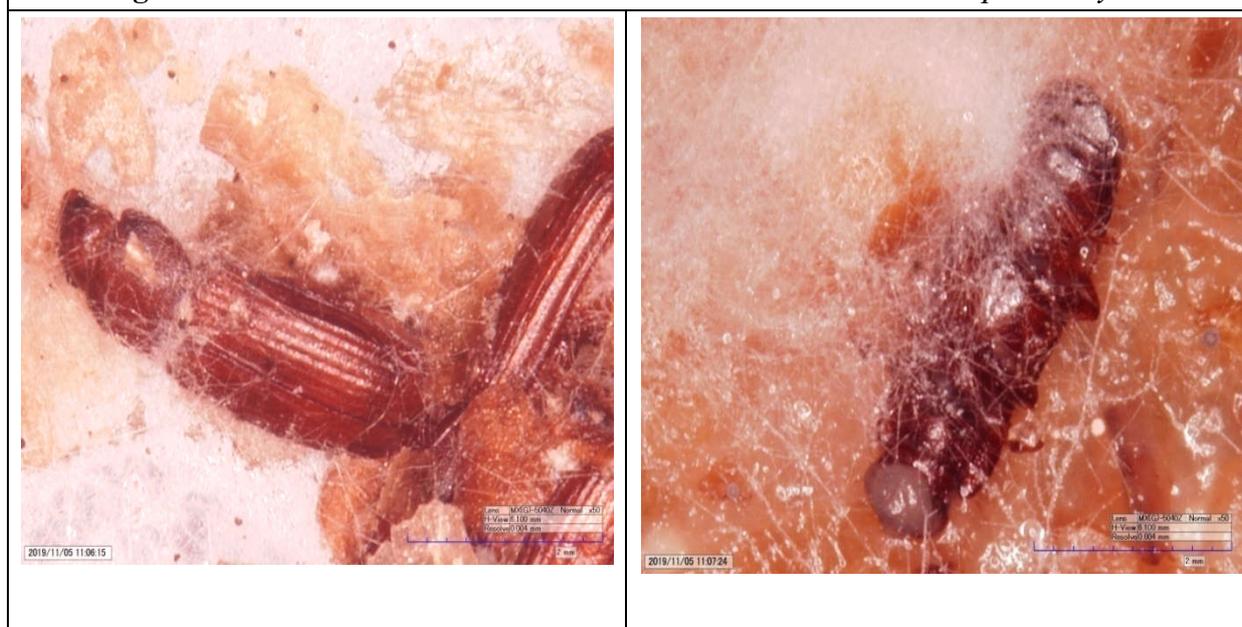


Figure 50: Effet de *Beauveria bassiana* vis-à-vis les adultes de *Tribolium confusum*

L'action de *Beauveria bassiana* sur les adultes des deux insectes s'exprime par des taux de mortalité observés dans le tableau 27. Après 24h de l'application du traitement, nous avons noté un nombre de mortalité de $8,75 \pm 0,47$ individus chez *Tribolium confusum* et de $9,66 \pm 0,33$ chez *Sitophilus oryzae*, ces valeurs progressent au fur et à mesure pour atteindre respectivement $9,75 \pm 0,25$ et $10,00 \pm 0,00$ au deuxième jour d'application. Après 98 h de

traitement, le taux de mortalité atteint 100 % pour les deux insectes. Les analyses statistiques ont montré que la mortalité est significative avec la dose du traitement utilisée et le temps d'exposition par rapport au témoin chez qui aucune mortalité n'est observée.

Tableau 27. Nombre d'insecte morts en fonction du temps (Moyennes \pm SE)

Temps d'exposition	Mortalité	
24H	Tc	8.75 \pm 0.47 b
	So	9,66 \pm 0.33 a
48H	Tc	9.75 \pm 0.25 ab
	So	10.00 \pm 0.00 a
72H	Tc	10.00 \pm 0.00 a
	So	10.00 \pm 0.00 a
96H	Tc	10.00 \pm 0.00* a
	So	10.00 \pm 0.00 a
Témoins	Tc	0.00 \pm 0.00 c
	So	0.00 \pm 0.00 b

(*) Signifie : les moyennes selon le test de Tukey (P < 0,05).

SE : Erreurs standard.

- **Sur les larves de *Tribolium confusum***

Sur le plan morphologique, la figure (51) représente l'effet insecticide par l'utilisation d'une dose de 10^7 sur les larves du 3^{em} stade de *Tribolium confusum*, nous avons remarqué que *Beauveria bassiana* s'enroule grâce à son mycélium de couleur blanchâtre sur toute la surface des larves traitées. Le taux de mortalité cumulé sur les larves est consigné dans le tableau 28. Ces résultats révèlent une variation significative entre la dose utilisée (10^7) et le temps d'exposition.

Il en ressort que *Beauveria bassiana* exerce un effet insecticide remarquable, en effet nous avons noté un taux de mortalité de 7,66 \pm 0.66 au bout de 24 heures qui atteint 10.00 \pm 0.00 après 98 heures d'exposition. D'autre part aucune mortalité n'a été enregistré dans le lot témoin.



Figure 51: Effet de *Beauveria bassiana* vis-à-vis les larves de *Tribolium confusum*

Tableau 28. Nombre des larves mortes en fonction du temps (Moyennes \pm SE)

TM	24 H	48H	72 H	98 H
Larves	7,66 \pm 0.66 a	9,00 \pm 0.57 a	9,66 \pm 0.33 a	10.00 \pm 0.00 a
Témoins	0.00 \pm 0.00 b			

SE : Erreurs standard.

Les résultats de la présente étude indiquent que *Beauveria bassiana* peut être utilisée avec succès contre *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*. Cela est en accord avec les travaux menés par d'autres chercheurs qui ont trouvé que *Beauveria bassiana* est un entomopathogène bien connu avec une large gamme d'hôtes et est considéré comme un biopesticide sûr et a montré de bons résultats contre de nombreuses espèces d'insectes des céréales stockées (Moore et *al.*, 2000; Lord, 2001 et 2005; Akbar et *al.*, 2004; Vassilakos et *al.*, 2006; Athanassiou et Steenberg, 2007; Hansen et Steenberg, 2007; kibarak et *al.*, , 2019; Sultan et *al.* ,2019).

Akbar et *al.*, (2004), dans leurs investigations ont démontré que les adultes de *T. Castaneum* présentaient très peu de sensibilité à *B. bassiana*. Par contre Sheeba et *al.*, (2001) ont appliqué *B. bassiana* contre *S. oryzae* et ont enregistré un taux de mortalité de 86,2% chez

les adultes. Cette découverte est également en accord avec Kassa et *al.*, (2002) qui ont testé 11 isolats de *B. bassiana* contre des adultes de *S. zeamais* et de *Prostephanus truncatus* (grand perceur des grains) (Coleoptera: Bostrychidae) et par conséquent, ont déterminé que *P. truncatus* était plus sensible à *B. bassiana* que *S. zeamais*.

Il a été noté par Khashaveh et *al.*, (2011) que le produit commercial de *Beauveria bassiana* a révélé un effet insecticide intéressant vis à vis de *granarius*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* avec des taux de mortalité respectifs de 88.33, 78.31 et 64.99%. De même Vandenberg, (1990) a démontré que des concentrations élevées (10^6 - 10^8 spores/abeille) de *B. bassiana* raccourcissaient la durée de vie des abeilles mellifères.

3.3. LA lutte chimique

3.3.1. Effet insecticide de Me-4, N-naphtyl-imino-2,N'-tolyl-3,delta-4 Thiazoline sur les adultes

L'application des différentes doses de Thiazoline à savoir 2 μ g/ml ,4 μ g/ml,08 μ g/ml et une solution mère sur les adultes de *Tribolium confusum* durant les temps d'exposition (24h ,48h,72 h et 96h) (Figure 52), indiquent que le taux de mortalité des adultes évolue proportionnellement dès le premier jour d'application où nous avons noté un taux de mortalité de 74% chez les mâles et 76% chez les femelles à la dose utilisée (08 μ g/ml). Contrairement au témoin où nous n'avons enregistré aucun taux de mortalité durant les quatre jours . L'analyse de la variance révèle une différence significative avec : Fcal= 0,07et F Théo=2,866.

Il est ainsi noté que le même produit avec les mêmes doses et le temps d'exposition exerce un effet significatif notable sur la durée de vie des adultes de *Sitophilus oryzae*. À la même dose nous avons enregistré un taux de mortalité de 76% chez les mâles et de 77% chez les femelles (Figure 53), ce taux après les trois jours atteint 97%et 96% respectivement.

L'analyse de la variance révèle une différence significative avec : F cal= 0,07et F Théo=2,866.

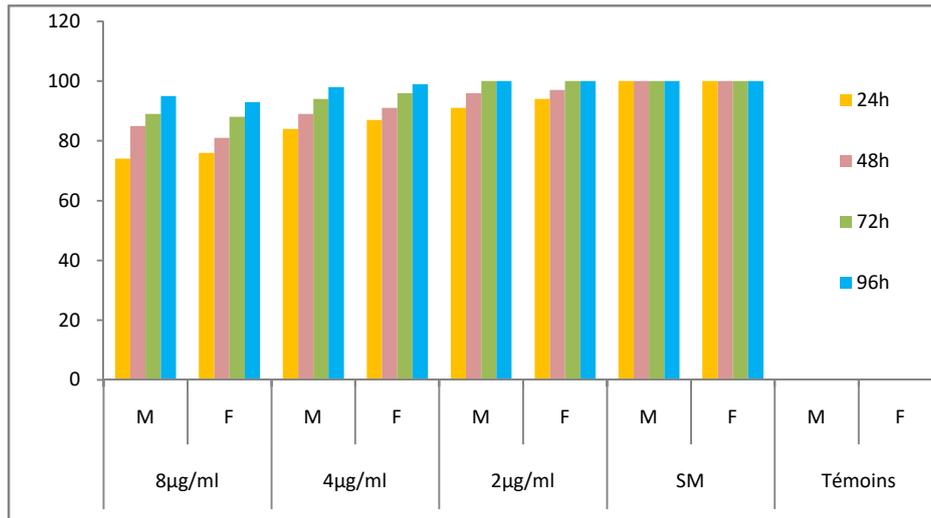


Figure 52: Effet insecticide de Théazoline vis-à-vis des adultes de *T. confusum*

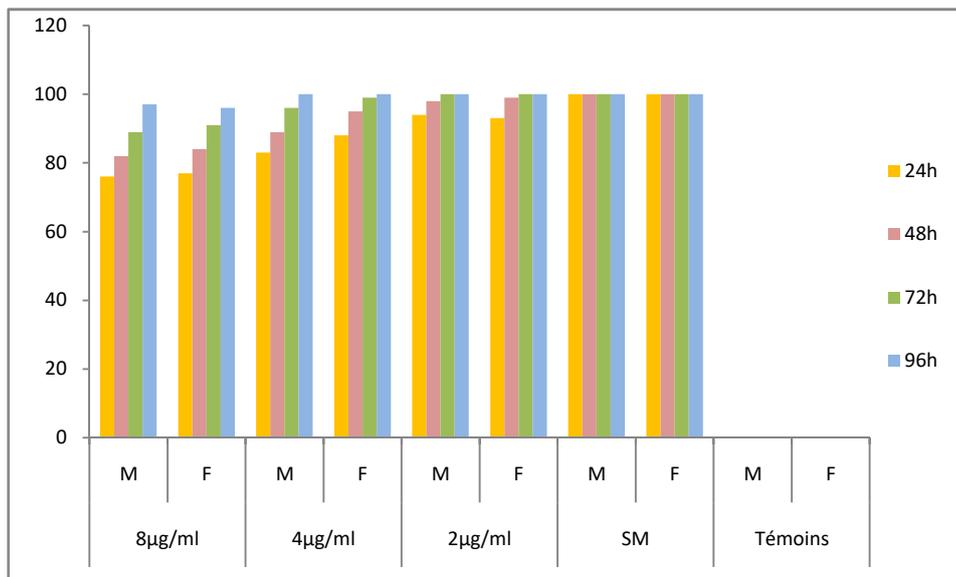


Figure 53: Effet insecticide de Théazoline vis-à-vis des adultes de *Sitophilus oryzae*

Depuis longtemps, les moyens de lutte sont essentiellement articulés autour de l'utilisation de pesticides de synthèse qui demeurent un moyen incontournable de surveillance de l'infestation des denrées alimentaires au moment du stockage.

L'efficacité de ces produits vis-à-vis les nuisibles est certaine, toute fois, leur utilisation est limitée par de nombreuses contraintes telles que l'impact négatif sur

l'environnement, l'apparition des souches résistantes et l'intoxication des consommateurs (Pretty et Hine, 2005); Ngamoet Hance, 2007 ; RegnaultRoger et *al.*, 2008).

Les hétérocycles type cycle Thiazoline occupent une place importante en pharmacie et en agriculture. L'évaluation de l'activité insecticide de ce produit synthétisé révèle un potentiel insecticide important vis-à-vis des deux insectes *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*.

Les activités insecticides des produits chimiques ont été rapportées dans plusieurs travaux : *Musca domestica* par Sawicki et Farnham (1968); *Culex pipiens* par Stone et Brown (1969); *Tribolium castaneum* par Walter et Price (1989).

Les résultats obtenus par Bouchikhi Tani (2011), montrent que deux insecticides Malgrain 2% et Actellic sont très toxiques à l'égard des adultes d'*A. obtectus*, les larves et les adultes de *T. bisselliella* comme ils agissent sur la fécondité des femelles des deux insectes étudiés. En effet Malgrain à 2% inhibe complètement la fécondité des femelles d'*A. obtectus* à partir de la dose 0,75% tandis que l'Actellic inhibe complètement la ponte des femelles d'*A. obtectus* et *T. bisselliella* à partir des doses 2µL/30g de graines et 2µL/50,24cm² respectivement.

Les travaux de Belhocine et Abdellaoui (2017), ont montré un effet répulsif important de Deltaméthrine à l'égard des adultes de *Sitophilus oryzae* avec un taux de 33,3% de répulsion. Dans le même contexte, Tirakmet (2015) a enregistré un effet très toxique du même produit vis-à-vis de *Tribolium castaneum* avec un taux de mortalité de 100%.

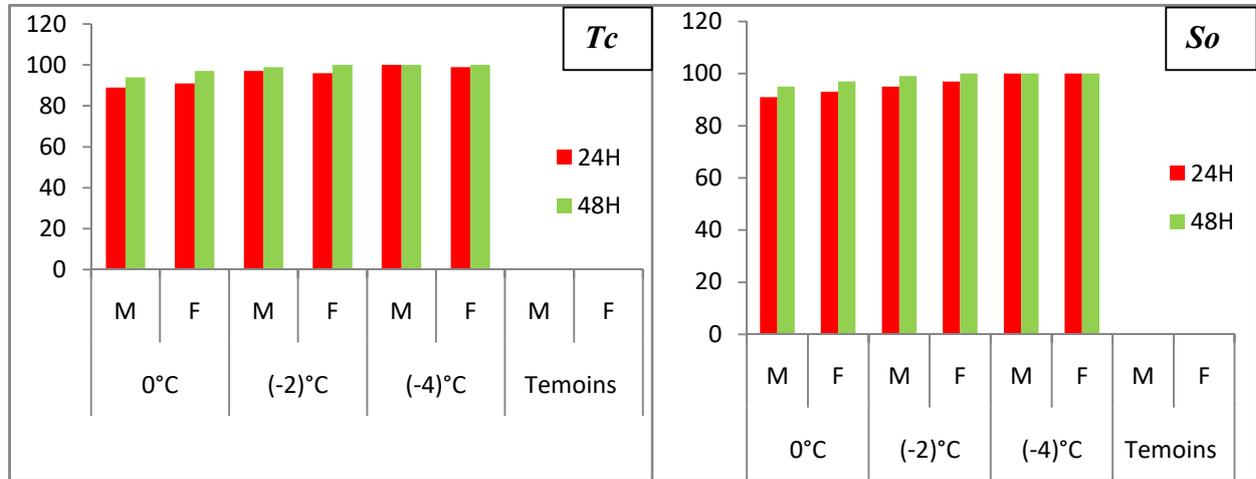
De nombreux chercheurs ont signalé le Deltaméthrine comme un produit de protection contre un certains nombres de ravageurs des denrées stockées y compris *Tribolium castaneum* (Yadav ,1986 ; Sinha et Saxena, 2000).

3.4. La lutte physique

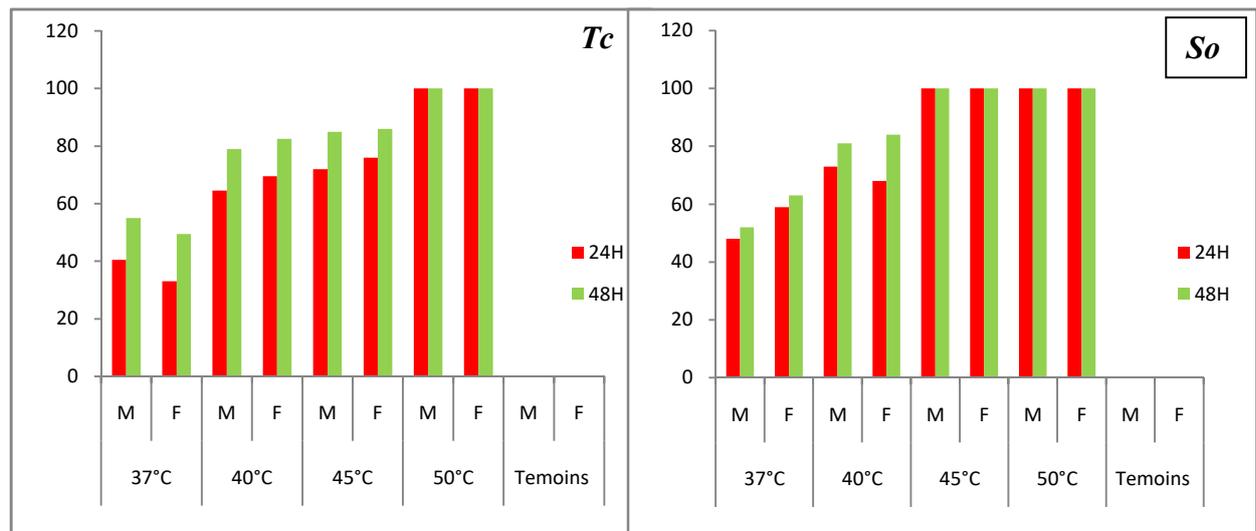
Les résultats de la variation du taux de mortalité cumulé des adultes de *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae* en fonction du temps d'exposition et la température sont représentés par les figures 54, 55, 56 et 57.

L'exposition des insectes à des températures maximales qui varient entre 37°C et 50°C permet d'enregistrer des taux de mortalité importants qui atteint 100% après deux jours d'exposition à la plus grande température. Contrairement au témoin où nous n'avons

enregistré aucun taux de mortalité durant les quatre jours (Figures 56 ,57). Le calcul de la variance révèle une différence significatif avec : $F_{cal} = 0,245 F_{théo} = 4,413$ pour *Tribolium confusum* et $F_{cal} = 0,03 F_{théo} = 4,41$ pour *Sitophilus oryzae*.



Figures 53.54 : Influence de la température minimale sur les deux insectes



Figures 55.56 : Influence de la température maximale sur les deux insectes

Par ailleurs, les résultats obtenus sur l'application des températures minimales indiquent que le taux de mortalité des adultes quelque soit l'espèce : *Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae* évolue proportionnellement avec les trois températures appliquées à savoir (0°C , -2°C et - 4°C) et la durée de leur exposition . Nous avons noté un taux de mortalité de 100 % à - 4°C pour les deux espèces étudiées quelque soit le sexe (Figures 55, 56).

L'analyse de la variance montre un effet significatif avec : $F_{cal} = 2,094 F_{théo} = 4,964$ pour *Tribolium confusum* et $F_{cal} = 2,131 F_{théo} = 4,964$ pour *Sitophilus oryzae*

Plusieurs travaux de recherche ont été menés dans ce sens afin de contrôler l'activité de ces insectes (Fields, 1992); Hagstrum et Flinn, 1994). Nos résultats sont en accord avec ceux de plusieurs recherches. D'après Sinha et Watters, (1985) le froid peut être employé pour la conservation des récoltes et les denrées stockées ne sont également pas infestées si la température de conservation est inférieure à 12°C. La ventilation refroidissante peut éliminer les insectes si elle atteint 5°C, toutes les formes meurent si cette température est maintenue pendant 02 mois (Ducom et Bourges, 1987).

La chaleur Constitue également un moyen de lutte non négligeable car elle provoque le séchage du grain et la destruction d'une certaine quantité d'insecte. Fleurat-leussard, (1978) et Scotti, (1978) rapportent que toutes les formes de ravageurs de denrées stockées, se trouvant dans une masse de grain sont éliminées après 10 minutes d'exposition à une température de 60°C sans aucune conséquence sur le pouvoir germinatif ni sur la qualité boulangère des grains, mais leur degré d'humidité diminue.

Cruz et *al.*, (1988), trouvent que les basses températures ont pour effet de ralentir l'activité alimentaire de l'insecte et d'en réduire les mouvements. Des chocs thermiques par froid se font également dans les entrepôts de céréales en exposant de façon prolongée les insectes aux basses températures. Les insectes secondaires comme l'espèce du genre *Tribolium* sont les plus sensibles au froid (Grossman 1993) et Fields, 1992).

Des expériences ont montré que les insectes et les acariens, ainsi que leurs œufs, ne survivent pas à des expositions soudaines et prolongées à des températures froides. Il a été prouvé que lorsqu'on refroidit le grain jusqu'à ce que sa température atteigne -7°C et qu'on maintient cette température pendant six semaines, aucun insecte ne survit, les insectes ne se développent pas et ne se nourrissent pas aux températures inférieures à 10°C. (Fourar, 1987).

Le traitement par la chaleur, consiste à faire passer un courant d'air chaud dans la masse de grain. Ainsi, les adultes de *S. granarius* (L), *R. dominica* (F) et *Tribolium confusum* (Duval) sont tués à 50°C pendant 3 minutes d'exposition (Shahein, 1991).

D'après Sinha et Watters (1985), les denrées ne sont généralement pas infestées si la température de conservation est inférieure à 12°C. Ainsi, exposés à une température de 5°C les insectes présentent des perturbations physiologiques suivies d'une mort certaine (Lee et *al.*, 1992).

3.5. Effet des huiles essentielles sur la faculté germinative des grains de blé

Le test de germination est complémentaire aux tests précédents car on ne peut juger l'efficacité d'une huile sans connaître ses effets secondaires sur les graines. Les résultats obtenus sont représentés par la figure (58).

Nous constatons que le taux de germination n'est pas affecté quelle que soit l'huile utilisée (*Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*) avec un pourcentage de germination respectivement (100%, 97% ,95%, 100% et 90%) comparativement à celui des lots témoins .

De nombreuses recherches ont mis en évidence l'action des huiles essentielles sur la faculté germinative des grains : (Righi, 2010; Bouchikhi Tani, 2011; Hamdani, 2012; Goucem, 2014; Kassemi, 2014; Sehari, 2018 et Rahmani, 2021).

En effet nos résultats sont en accord avec ceux d'Aiboud (2011), qui a observé que les huiles essentielles extraites du myrte, du thym, de l'origan, de l'eucalyptus, du bois d'inde et des clous de girofle ne présentent aucun effet sur le pouvoir germinatif des graines de niébé.

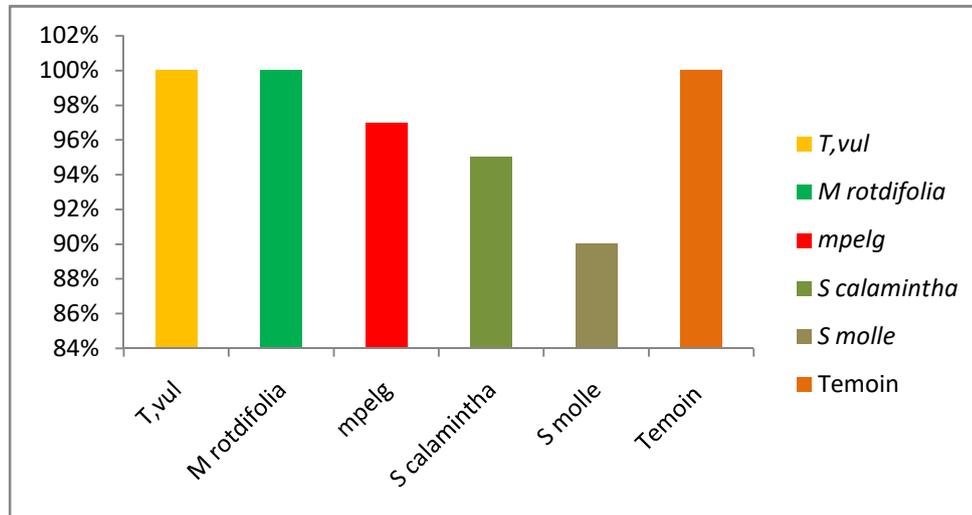


Figure 58: Effet des huiles essentielles sur la faculté germinative des grains

A la suite des tests de germination réalisés par Alkan et al. (2021) aucun effet négatif des huiles essentielles sur la germination du blé n'a été observé. Après 7 jours, une germination de 100 % a été observée dans tous les traitements. Medani et Terkaman (2006), ont obtenu un taux de germination de 97% pour des grains de niébé traités avec une dose de

0,6 ml de l'huile essentielle de citron. Ouzir et Rabehi (2009), souligne un taux de germination de 94,5% pour les grains de blé traités avec une dose de 15 μ l de l'huile de pamplemousse. Par contre Bentayeb et Boudiaf (2017), ont démontré l'effet inhibiteur d'*Eucalyptus globulus* Let de *Mentha spicata* L sur la germination du blé dur, l'orge et l'avoine. Toujours dans le même sens Bouacherine et Boudraa (2018) affirment que la concentration 100 et 50 d'huile inhibe la germination de l'avoine.

Conclusion

Ce chapitre a fourni un ensemble de méthodes de lutte (physique, chimique, biologique par l'utilisation des plantes médicinales et par un l'utilisation d'un champignon entomopathogène) qui pourraient servir dans un programme de lutte intégrée raisonné et efficace contre les deux ravageurs des stocks *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*.

CHAPITRE V

ETUDE

TOXICOLOGIQUE

Matériels et Méthodes
Résultats et Discussion

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

1. Introduction

La toxicologie est reconnue depuis toujours comme la science des poisons. Elle vise à avoir la réponse des organismes vivants vis-à-vis les substances toxiques et leurs distributions dans les organes, les tissus en fonction du temps et la dose utilisée. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce chapitre qui a pour but d'évaluer la toxicité des huiles essentielles de quatre plantes médicinales étudiées ayant prouvé leurs pouvoirs bioinsecticides contre les deux ravageurs. Des études histopathologiques et biochimiques ont été réalisées sur des souris model Swiss.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Matériel animal

Dans le but d'évaluer la toxicité des huiles essentielles de quatre plantes médicinales sur les souris, nous avons utilisé comme modèle animal des souris mâles et femelles de souches Swiss fournis par le laboratoire de la ferme expérimentale de l'université Mustapha Stambouli de Mascara.

2.1.1. Elevage des souris

Un élevage de masse a été réalisé dans des cages transparentes d'une longueur de 55cm, d'une largeur de 33 cm qui consiste à mettre en contact un male avec trois femelles pour la production d'un nombre maximale des souris et réaliser les tests de toxicité. Le suivi journalier permet de sexer et prélever les souris mâles et femelles. Le nettoyage des cages est assuré régulièrement ainsi que la nourriture (nourriture standard de Bétails) et l'eau de robinet dans des biberons spéciaux. L'ensemble est gardé dans des conditions constantes de température relative 27 c° et 12h de lumière par 24 heures.

2.1.2. Répartition des groupes

Pour chaque plante testée les souris sont réparties en deux lots : un lot homogène est formé de six mâles et six femelles (les femelles sont séparées des mâles) et le deuxième lot témoins qui renferme (6 mâles et 6 femelles) ou les souris sont saines et n'ont subits aucun traitement.

2.2. Préparations des solutions injectables

Pour réaliser ce test nous avons utilisé la voie intra péritonéale comme voie d'administration. Les doses utilisées ont été fixées sur la base des résultats de mortalité des insectes démontrés dans le chapitre précédent et consignés dans le tableau suivant :

Tableau 29: Solutions injectables utilisées.

Plantes	<i>M rotundifolia</i>		<i>M pulegium</i>		<i>S calamintha</i>		<i>T vulgaris</i>		<i>Schinus molle</i>	
Sexes	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
	06	06	06	06	06	06	06	06	06	06
Doses	3µL/ml		10 µL/ml		10µL/ml		10µL/ml		15µL/ml	

2.3. Etude de la toxicité chronique

Dans cette étude, La toxicité chronique a été déterminée pour évaluer l'effet thérapeutique de chaque huile essentielle de chaque plante médicinale utilisée en se basant sur la ligne décrite OCDE. Elle consiste à répartir les souris (mâles et femelles) en lots qui renferment chacun six souris avec un lot témoin qui n'a subi aucun traitement. Pour chaque huile une dose bien déterminée a été administrée par voie intra péritonéale à l'aide d'une seringue d'insuline de 2 ,5 ml quotidiennement pendant trois mois (Figure 59).



Figure 59. Injection intra péritonéale des animaux

Dans chaque lot, les souris ont été marquées en numéro (1 à 6) sur la queue pour les identifier. Chaque jour, après 4 heures de chaque traitement, les souris sont soumises à des observations concernant le comportement, l'apparition de signes anormaux (vomissement diarrhée, crampes, chute de poils, agression, cannibalisme, mortalité....)

2.4. Evaluation du poids corporel

Les souris mâles et femelles sont pesées chaque jour durant toute la période d'expérimentation ainsi que le comportement de chaque souris est pris en considération.

2.5. Analyses biochimiques

Après une durée de traitement de quatre mois par les différentes huiles essentielles, les souris ont été soumises à jeun pendant 24 heures puis sacrifiées sous anesthésie par le Chloral. Le sang a été prélevé et recueilli dans des tubes héparinés pour éviter la coagulation puis centrifugés pendant 15 min, le sérum obtenu a été aliquoté dans des tubes à Eppendorf puis conservé dans un congélateur pour réaliser les tests biochimiques. Les analyses biochimiques ont été menées sur le plasma selon les protocoles décrits par : Spinreact (2016) au niveau du laboratoire pédagogique de l'université de Mascara.

2.5.1. Détermination de la fonction rénale

2.5.1.1. Détermination quantitative de créatine kinase (CK)

- **Principe de la méthode**

Principe de la méthode, la créatine kinase (ck) catalyse le transfert réversible d'un groupe de phosphates de la phosphocréatine vers l'adp. Cette réaction s'accouple avec d'autres réactions catalysées par l'hexokinase (hk) et par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (g6f-dh):

$$\text{phosphocréatine} + \text{adp} \xrightarrow{\text{ck}} \text{créatine} + \text{atp}$$

$$\text{glucose} + \text{adp} \xrightarrow{\text{hk}} \text{glucose-6-phosphate} + \text{atp}$$

$$\text{glucose-6-phosphate} \xrightarrow{\text{g6f-dh}} \text{6-phosphogluconate} + \text{nadp}^+ + \text{h}^+$$

La vitesse de formation de nadph, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique en ck présente dans l'échantillon testé

2.5.1.2. Détermination quantitative d'acide urique

- **Principe de la méthode**

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et du 2,4-Diclorophénolsulphonate (DCPS) forme un composé rosacé:

$$\text{Acide urique} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Uricase}} \text{Allantoïne} + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}_2$$

$$2\text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{-AF} + \text{DCPS} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinonaimine} + 4\text{H}_2\text{O}$$

L'intensité de quinonaimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé

2.5.1.3. Détermination quantitative d'urée

- **Principe de la méthode**

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon en ammoniac (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2). Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypochlorithe (ClONa), en présence du catalyseur nitroprusiute, pour former un indophénol vert :

$$\text{Urée} + \text{Uréease} + (\text{NH}_4^+)_2 + \text{CO}_2 + \text{NH}_4^+ + \text{Salicylate} + \text{ClONa} + \text{Nitroprusiute} \rightarrow \text{Indophénol}$$
 L'intensité de couleur formée est proportionnelle à la concentration d'urée dans le test la diminution de la concentration de NAD^+ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

2.5.1.4. Détermination d'albumine

- **Principe de la méthode**

L'albumine se combine au vert de bromocrésol à pH légèrement acide entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert bleuté, elle est proportionnelle à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé.

2.5.2. Détermination de la fonction hépatique

2.5.2.1. Détermination quantitative de bilirubine totale

- **Principe de la méthode**

La bilirubine est transformée en azobilirubine au moyen de l'acide sulfanilique diazote, et se mesure par photométrie. Des deux fractions présentes dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre associée à l'albumine, seule la première réagit en milieu aqueux (bilirubine directe). La deuxième ne réagit que par solubilisation avec du diméthylsulfoxyde (DMSO)- (bilirubine indirecte). Dans la détermination de la bilirubine indirecte, on détermine également la bilirubine directe, le résultat correspondant à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon testé.

2.5.2.2. Détermination quantitative d'aspartate amino transférase GOT (AST)

- **Principe de la méthode**

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (Got) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. l'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH^+ :

$$\text{Oxalacétate} + \text{NADH}^+ \rightarrow \text{Malate} + \text{NAD}^+$$

α aspartate + AST glutamate + oxalacétate \rightarrow oxalacétate + NADH + H⁺ MDH
 MALATE + NAD⁺ la vitesse de réduction de la concentration en nadh au centre, déterminée
 photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans
 l'échantillon

2.5.2.3. Détermination quantitative d'alanine amino transférase GPT (ALT)

- **Principe de la méthode :**

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique
 pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine d'alanine vers l'alpha-
 cétooglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate
 en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH: \rightarrow Cétooglutarate α Alanine +
 ALT Glutamate + Pyruvate \rightarrow Pyruvate + NADH + H⁺ LDH Lactate + NAD⁺ La
 vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement,
 est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon.

2.5.3. Détermination de la fonction lipidique

2.5.3.1. Détermination quantitative de cholestérol

- **Principe de la méthode**

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la
 réaction suivante: Cholestérol ester + H₂ \rightarrow O CHE Cholestérol + Acides gras
 \rightarrow Cholestérol + O₂ CHOD 4-Cholesténone + H₂ O₂ 2 H₂ O₂ \rightarrow +Phénol +
 4-Aminophénazone POD Quinonimine + 4H₂ O L'intensité de la couleur formée est
 proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé

2.5.4. Détermination des protéines totales

- **Principe de la méthode**

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels
 de cuivre, ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la
 couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon
 testé.

2.5.5. Détermination du Glucose

- **Principe de la méthode**

Le glucose oxydase (god) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène (h₂o₂) produit, se détache au moyen d'un accepteur chromo génique d'oxygène, de phénol-ampirone en présence de peroxydase (POD): →———D-Glucose + O₂ + H₂O β GOD Acide gluconique + H₂O₂ →———H₂O₂ +Phénol + Ampirone POD Quinone + H₂O L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon testé.

2.5.6. Détermination quantitative de calcium

- **Principe de la méthode**

Le calcium, en milieu neutre, forme un complexe de couleur bleu avec l'arsénazo III (acide 1,8-dihydroxi-3,6-disulfo-2,7-naftalenen-bis (azo)- dibenzenarsonique). L'intensité de couleur est directement proportionnelle à la quantité de calcium présent dans l'échantillon testé.

2.6. Etude histologique des organes (Anapathologie)

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital militaire d'Oran, dans le but d'apprécier et de démêler les anomalies au sein des tissus à analyser.

2.6.1. Prélèvement des organes

Après le prélèvement du sang, les différents organes (foie, reins, cerveau et cœur) ont été extraits, lavés avec l'eau physiologique préparé (Na cl 9%) puis pesés, conservés et fixés dans le formaldéhyde pour éviter toute altération microbienne ainsi que pour garder les tissus dans un état sain. La fixation peut avoir comme durée environ 24 à 48heures.

2.6.2. Etude macroscopique des organes

Après la fixation, les organes découpés en petits morceaux ont été placés dans des cassettes en plastique pour réaliser les coupes histologiques.

➤ **Déshydratation**

Cette étape est utilisée pour éliminer le fixateur, elle comporte plusieurs bains successifs : Un bain dans un bac formol suivi de 6 bacs d'alcool -un bac de xylène –deux bacs de paraffine. La déshydratation dure ½ heure pour chaque bac. La succession de toutes ces étapes est facilitée à l'aide d'un automate.

➤ **Inclusion**

Le but de cette étape est d'enrober les échantillons par la paraffine, cela permettra de faciliter la réalisation des coupes histologiques. L'appareil d'enrobage comporte trois compartiments dont le premier et le deuxième sont chauds tandis que le troisième est froid. La technique consiste à verser la paraffine fondue liquide dans des moules métalliques dans lesquelles, les échantillons vont être placés puis imprégnés dans la paraffine liquide dans les deux premiers compartiments ensuite les laisser refroidir dans le troisième compartiment froid.

2.6.3. Réalisation des coupes et étuvage

Les coupes histologiques sont réalisées à l'aide d'un microtome après chaque passage avec une épaisseur réglable. Le collage des coupes se fait sur des lames en verre qui sont recouvertes de l'albumen pour garder la coupe sur la lame. L'ensemble est mis dans une étuve pendant une nuit.

-Déparaffinage

Cette opération permet de débarrasser la paraffine et de réhydrater les tissus. Le cycle de déparaffinage comporte plusieurs étapes qui consistent à émerger le panier contenant les lames dans trois bacs successifs de xylène suivi de trois bacs d'alcool-1 bac d'hématoxyline-4 bacs lavage d'eau -1 bac milieu acide -1 bac milieu basique 2 bacs d'Alcool - 2 bacs de Xylène. Pour conserver les lames à une éventuelle observation microscopique, les lames sont recouvertes par les lamelles à l'aide d'une colle EUKITT.

2.6.4. Etude microscopique

C'est la dernière étape, elle consiste à placer les lames sous un microscope photonique pour la lecture des résultats et la prise des photos. L'interprétation des résultats de la présente étude a été réalisée par Docteur Khaladi B.

2.7. Analyses statistiques

Les différents paramètres étudiés pour l'étude toxicologique sont soumis à une analyse de la variance ANOVA à un critère de classification $P = 0,05$ en utilisant l'Excel.

3. Résultats et Discussions

3.1. Comportement des animaux

L'observation quotidienne des souris (mâles et femelles) durant les 91 jours du traitement par les différentes doses des différentes huiles essentielles testées par la voie intra péritonéale, nous a permis de constater qu'aucune mortalité ni changement de comportement des animaux traités sont observés par comparaison au témoins .

3.2. Etude de l'évolution du poids corporel

Le tableau 30, illustre l'évolution pondérale des souris mâles et femelles soumises aux différents traitements par la voie intra péritonéale en fonction du temps d'exposition (91jrs) et de la dose d'huile testée. Il en ressort qu'en faisant appliqué les différents traitements, les souris ont montré une prise de poids proportionnelle en comparaison avec le premier jour du traitement.

Le gain du poids est très visible pour toutes les huiles testées, il peut passer d'une valeur minimale jusqu'à une valeur maximale. Par exemple pour *Mentha rotundifolia*, nous avons enregistré un poids de 35,79g \pm 0.42 chez les mâles et 36.91g \pm 0.30 chez les femelles le premier jour de traitement. Celui-ci après trois mois atteint 38,55 \pm 0,68 et 38,72 \pm 0,77 respectivement.

Il est ainsi noté que cette augmentation est aussi notée chez les lots témoins (mâles et femelles) (37,57g \pm 0.11 chez les mâles et 37,86 g \pm 0,05 chez les femelles). Cette valeur en poids a atteint 38,62 g \pm 0,11 et 39,03 g \pm 0,04 respectivement après la même durée de traitement. Il faut dire que cette augmentation des poids chez les souris est tout à fait normale par comparaison au témoin.

L'analyse de la variance révèle une différence significative dont: Fcal =44,7746702 et F Théo = 1,85048466.

Tableau. 30. Evolution du poids corporel des souris mâles et femelles traitées et non traitées par les huiles essentielles.

	<i>M rotundifolia</i>		<i>M pulegium</i>		<i>S calamintha</i>		<i>T vulgaris</i>		<i>Smolle</i>		Témoins	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
J-1	35,79 ±0,42	36,91 ±0,30	36,79± 0,24	37,04 ±0,05	37,45 ±0,31	38,08 ±0,09	38,03 ±0,11	38,31 ±0,06	39,05 ±0,09	39,44 ±0,12	37,57 ±0,11	37,86 ±0,05
J-7	36,22 ±0,38	37,23 ±0,25	36,87± 0,24	37,17 ±0,06	37,55 ±0,29	38,15 ±0,10	38,07 ±0,12	38,53 ±0,38	39,13 ±0,09	39,50 ±0,12	37,61 ±0,11	37,90 ±0,05
J-14	36,36 ±0,41	37,44 ±0,26	37,01± 0,06	37,31 ±0,03	37,60 ±0,29	38,21 ±0,10	38,21 ±0,16	38,60 ±0,40	39,20 ±0,07	39,57 ±0,12	37,68 ±0,11	38,04 ±0,04
J-21	36,58 ±0,39	37,68 ±0,25	37,15 ±0,22	37,15 ±0,22	37,66 ±0,28	38,28 ±0,09	38,28 ±0,16	38,52 ±0,05	39,27 ±0,06	39,64 ±0,11	37,72 ±0,12	38,16 ±0,05
J-28	36,74 ±0,41	37,84 ±0,47	37,27 ±0,26	37,49 ±0,05	37,72 ±0,29	38,34 ±0,09	38,40 ±0,15	38,61 ±0,03	39,35 ±0,06	39,70 ±0,12	37,89 ±0,10	38,23 ±0,05
J-35	36,91 ±0,47	38,00 ±0,27	37,39 ±0,26	37,61 ±0,07	37,79 ±0,28	38,41 ±0,10	38,50 ±0,16	38,69 ±0,04	39,42 ±0,07	39,76 ±0,11	37,91 ±0,11	38,31 ±0,04
J-42	37,06 ±0,60	38,18 ±0,35	37,48 ±0,24	37,67 ±0,05	37,85 ±0,28	38,48 ±0,10	38,63 ±0,14	38,76 ±0,05	39,55 ±0,22	39,65 ±0,11	37,99 ±0,12	38,39 ±0,04
J-49	37,23 ±0,57	38,04 ±0,76	37,55 ±0,24	37,71 ±0,04	37,92 ±0,29	38,54 ±0,10	38,84 ±0,48	38,81 ±0,39	39,65 ±0,22	39,74 ±0,29	38,11 ±0,10	38,45 ±0,02
J-56	38,17 ±0,73	38,21 ±0,77	37,61 ±0,23	37,75 ±0,05	38,02 ±0,30	38,61 ±0,08	38,76 ±0,13	38,94 ±0,05	39,74 ±0,23	39,82 ±0,28	38,18 ±0,11	38,52 ±0,06
J-63	38,16 ±0,87	38,30 ±0,80	37,68 ±0,23	37,80 ±0,06	38,10 ±0,31	38,68 ±0,08	38,81 ±0,12	39,00 ±0,07	39,80 ±0,23	39,91 ±0,28	38,27 ±0,10	38,63 ±0,04
J-70	38,18 ±0,77	38,46 ±0,75	37,73 ±0,22	37,86 ±0,05	38,19 ±0,33	38,74 ±0,07	38,89 ±0,12	39,08 ±0,08	39,90 ±0,23	39,98 ±0,28	38,38 ±0,12	38,74 ±0,05
J-77	38,33 ±0,76	38,52 ±0,75	37,82 ±0,05	37,92 ±0,05	38,27 ±0,32	38,82 ±0,07	38,97 ±0,14	39,19 ±0,08	39,96 ±0,24	40,06 ±0,28	38,45 ±0,11	38,82 ±0,05
J-84	38,47 ±0,75	38,61 ±0,75	37,87 ±0,22	37,99 ±0,06	38,34 ±0,31	38,88 ±0,09	39,07 ±0,17	39,27 ±0,08	40,01 ±0,28	40,11 ±0,25	38,53 ±0,11	38,90 ±0,05
J-91	38,55 ±0,68	38,72 ±0,77	37,95 ±0,22	38,07 ±0,05	38,43 ±0,32	39,01 ±0,05	39,15 ±0,20	39,35 ±0,10	40,12 ±0,28	40±0, 25	38,62 ±0,11	39,03 ±0,04

3.3. Etude des paramètres biochimiques

Dans le but d'évaluer l'impact des huiles essentielles testées sur les différents métabolismes et organes cibles, un ensemble des paramètres biochimiques a été déterminé.

3.3.1. Détermination du Glucose

Les résultats d'évaluation du glucose sont consignés dans le tableau ci-dessous, (Tableau31). A la lumière des résultats, nous avons souligné une légère diminution du glucose qui peut être négligeable chez les souris mâles qui sont traitées par *M pulegium*, *S. molle*, *M rotundifolia* et *T. vulgaris* avec des valeurs voisines de $3.15 \pm 0,24$; 3.16 ± 0.21 ; $3.29 \pm 0,38$

et $3.19 \pm 0,15$ mmol/L respectivement en comparaison avec celles des témoins $3.31 \pm 0,18$ et de celle des normes décrites par Spinreact ($3,33-6,10$ mmol/L).

Tableau 31 : Détermination du Glucose.

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	normes
Mâles (mmol/L)	$3,29 \pm 0,38$	$3,15 \pm 0,24$	$3,30 \pm 0,31$	$3,19 \pm 0,15$	$3,16 \pm 0,21$	$3,31 \pm 0,18$	3,33-6,10 mmol/L
Femelles (mmol/L)	$3,35 \pm 0,17$	$3,36 \pm 0,18$	$3,29 \pm 0,25$	$3,48 \pm 0,21$	$3,53 \pm 0,13$	$3,44 \pm 0,13$	

3.3.2. Détermination de la fonction rénale

- **Créatinémie**

L'application des différentes doses choisies sur les souris mâles et femelles durant un temps d'exposition de 91 jours n'a provoqué aucun changement dans le taux de la créatinine chez les souris traités que ce soit mâles ou femelles par rapport à celui du témoins les valeurs ont été dans les limites des normes à titre exemple : nous avons marqué une valeur voisine de $1,04 \pm 0,08$ chez les mâles et de $1,08 \pm 0,02$ chez les femelles traités par *M rotundifolia* .Par ailleurs, nous avons enregistré une valeur de $1,10 \pm 0,01$ mg/dl chez les mâles et $1,09 \pm 0,08$ mg/dl chez les femelles des témoins, ces valeurs correspondent au normes décrites par Spinreact : ($0,7-1,4$ mg/dl) chez les mâles et $0,6-1,1$ chez les femelles (Figure32).

Tableau 32 : Détermination de la Créatinémie

	<i>M.rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mg/dl)	$1,04 \pm 0,08$	$1,08 \pm 0,03$	$1,08 \pm 0,02$	$1,06 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,01$	$1,10 \pm 0,01$	0,7-1,4 (mg/ dl)
Femelles (mg/dl)	$1,08 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,09$	$1,08 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,18$	$1,07 \pm 0,01$	$1,09 \pm 0,08$	0,6-1,1 (mg/dl)

- **Acide urique**

Les résultats consignés dans le tableau 33 nous ont permis d'observer que l'acide urique n'a pas connu une modification chez les souris qui ont subi les différents traitements et mêmes chez les témoins de ce fait, nous avons comparé ces résultats obtenus aux valeurs décrites par Spinreact : Femelles ($2,5-6,8$ mg/dl) et Mâles ($3,6-7,7$ mg/dl).

Tableau 33: Détermination d'acide urique

	<i>Mrotundifolia</i>	<i>Mpulegium</i>	<i>Scalamintha</i>	<i>Tvulgaris</i>	<i>Smolle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mg/dl)	5,48 ±0,92	4,93±1,23	4,17±0,83	4,93±0,62	4,43±0,70	5,38±0,40	3,6-7,7 mg/dl
Femelles (mg/dl)	4,72±0,75	5,57±0,66	4,78±0,35	4,32±0,41	4,076±0,90	5,01±1,17	2,5-6,8 mg/dl

- **Urée**

Quel que soit l'huile essentielle appliquée (*Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thyumus vulgaris* et *Schinus molle*), aucune différence notable n'a été observé entre les valeurs de l'urée chez les souris traitées et les souris témoins, par rapport aux normes (Tableau 34).

Tableau 34 : Détermination d'urée

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mmol/l)	7,06 ±0,41	7,22±0,18	7,12±0,17	7,17±0,15	7,07±0,16	7,14±0,05	2,49-7,49 mmol/l
Femelles (mmol/l)	7,00±0,15	7,04±0,27	7,04±0,23	7,08±0,09	7,16±0,11	7,15±0,06	

- **Albumine**

Les résultats relatifs à la détermination de l'albumine sont consignés dans le tableau 35. Aucune modification ni changement n'ont été observé entre les valeurs d'albumine chez les souris traitées qui ne dépassent pas 3,86 ±0,09 g/dl comme valeurs maximale chez les mâles et 3,91±0,19 chez les femelles et (3,86±0,06) g/dl chez les mâles et femelles (3,94±0,08) chez les souris témoins. Ces résultats ont été comparés à ceux des normes (3,5 à 5,0 g/dl).

Tableau 35 Détermination d'albumine

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (g/dl)	3,86 ±0,09	3,84±0,05	3,79±0,05	3,82±0,06	3,85±0,17	3,86±0,06	3,5 -5,0 g/dl
Femelles (g/dl)	3,91±0,09	3,78±0,06	3,91±0,19	3,86±0,12	3,90±0,06	3,94±0,08	

3.3.3. Détermination de la fonction lipidique

- **Cholestérol**

Les résultats portants sur la détermination du Cholestérol chez les souris qui ont subi les différents traitements ne présentent aucune différence notable par rapport à celle des souris témoins l'ensemble est inférieur à 200mg/dl (valeur des normes) (Tableau 36).

Tableau 36. Détermination du cholestérol

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mg/dl)	77,38 ±1,78	76,06±2,63	93,56±2,45	85,45±1,90	84,56±0,17	79,62±0,47	≤ 200mg/dl
Femelles (mg/dl)	76,94±0,68	74,26±1,29	92,39±2,36	85,27±1,75	85,14±3,61	83,41±1,89	

3.3.4. Détermination du Calcium

D'après les résultats obtenus lors du test de la détermination du calcium, il s'est avéré que le taux de calcium chez les souris traitées présente une augmentation légère en comparaison avec les souris témoins. Ces résultats obtenus sont dans les limites des normes (8,5-10,5 mg/dl) (Tableau 37).

Tableau 37. Détermination du Calcium

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mg/dl)	9,32 ±0,11	9,43±0,11	9,38±0,14	9,34±0,19	9,09±0,33	9,12±0,19	8,5-10,5 mg/dl
Femelles (mg/dl)	9,37±0,11	9,51±0,09	9,33±0,22	9,35±0,16	9,35±0,35	9,19±0,19	

3.3.5. Détermination de la fonction hépatique

- **Bilirubine totale**

L'exposition des souris mâles et femelles aux différentes doses des cinq huiles essentielles pendant une durée de 91 jours, nous a permis d'enregistrer un taux de Bilirubine totale qui se rapproche de celui des témoins qui est de l'ordre de 1,6±0,07 chez les mâles et 1,67±0,04 chez les femelles (Tableau 38).

Tableau 38. Détermination de Bilirubine totale

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mg/dl)	1,61 ±0,03	1,63±0,04	1,59±0,09	1,54±0,13	1,49±0,14	1,6±0,07	1,10 mg/dL
Femelles (mg/dl)	1,7±0,04	1,62±0,03	1,49±0,06	1,62±0,06	1,47±0,08	1,67±0,04	

- **Aspartate amino transférase GOT (AST)**

L'administration des huiles essentielles par voie intra péritonéale n'a montré aucune différence du taux de AST chez les souris traitées en comparaison avec les souris témoins. Ces résultats sont dans les normes (≥ 22 U/L) (Tableau 39).

Tableau 39. Détermination de TGO

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (mmol/L)	34,50±1,30	35,00±1,48	36,75±1,54	37,02±1,45	36,25±1,86	36,97±1,99	≥22 U/L
Femelles (mg/dl)	36,91±1,85	35,78±1,51	35,91±1,49	36,86±0,90	36,55±1,67	36,94±1,51	

- **TGP (ALT)**

D'après le profil du tableau 40, le taux d'AST chez les souris traitées (mâles et femelles) est dans les normes parallèlement aux souris témoins qui présentent aussi des valeurs dans les normes.

Tableau 40. Détermination de TGP.

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins
Mâles (mmol/L)	38,95±2,04	39,25±1,85	38,29±3,01	39,16±1,51	38,85±2,04	39,86±2,30
Femelles (mmol/L)	38,54±2,04	39,20±1,30	40,01±2,39	39,50±2,42	38,75±1,67	39,42±2,39

3.3.6. Détermination des protéines totales

Les résultats conquis se présentent dans le tableau 41, il en ressort que le taux des protéines totales chez les souris (mâles et femelles) traitées par les cinq huiles essentielles se rapproche de celui des souris témoins. Nous avons enregistré un taux de $7,46 \pm 0,47$ g/dl chez les mâles et $7,54 \pm 0,30$ g/dl chez les femelles traitées par l'huile de *Mentha rotundifolia* ces valeurs sont voisines à celles obtenues chez *Satureja calamintha* qui sont de l'ordre de $7,48 \pm 0,18$ g/dl et $7,56 \pm 0,21$ g/dl. L'ensemble des valeurs est dans les limites des normes décrites par Spinreact (6,6-8,3 g/dl).

Tableau 41: Détermination des protéines totales

	<i>M. rotundifolia</i>	<i>M. pulegium</i>	<i>S. calamintha</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>S. molle</i>	Témoins	Normes
Mâles (g/dl)	7,46 ±0,47	7,19±0,50	7,48±0,18	7,63±0,16	7,46±0,47	7,71±0,19	6,6-8,3g/dl
Femelles (g/dl)	7,54±0,30	7,17±0,35	7,56±0,21	7,52±0,13	7,57±0,21	7,74±0,20	

L'ensemble des résultats obtenus sur les paramètres biochimiques a permis de souligner les effets bénéfiques de l'administration intra péritonéale des huiles essentielles testées. Nos résultats sont similaires à ceux de beaucoup de chercheurs :

Les transaminases sont des bio marqueurs spécifiques d'une atteinte hépatique leur élévation signifie une hépatotoxicité, mais cette élévation n'est considérée comme sévère que si elle dépasse 15 à 20 fois la normale (Gopal et Rosen, 2000 ; Green et Flamm, 2002).

Selon Gherib (2015), l'administration orale de l'huile d'oléastre aux rats pendant 30 jours révèle un taux normal de TGP et TGO similaires aux lots des contrôles.

Des études réalisées par Righi et *al.*, (2010) ne révèlent aucune différence entre le taux de TGO enregistré chez les rats traités avec la poudre des feuilles de Santoline et les rats témoins qui ont des moyennes de $39,09 \pm 13,13$ U/L et $39,05 \pm 19,91$ respectivement. Le même auteur indique que le taux de TGP chez les rats traités et témoins est dans les normes.

D'après Djahra, (2014) l'extrait brute méthanolique de *Marrubium vulgare* L, engendre une baisse des taux de TGO et TGP qui sont respectivement : 42,26U/L ; 35,09UL/L. Bachtarzi, (2018) révèle une augmentation des transaminases hépatiques (TGO et TGP) pour les deux sexes (mâles et femelles) après administration du *Teucrium polium*. Savvidou et *al.*, (2006) rapportent aussi une augmentation du taux de TGO et TGP chez des femmes atteintes d'hépatite suite à la consommation de la même plante *Teucrium polium* L pendant 3 mois.

En ce qui concerne le bilan lipidique, Lacheheb et Mettai, (2020) ont constaté que le traitement des animaux par l'extrait hydro éthanolique de *Satureja calamintha* n'a aucun effet sur le taux de Cholestérol. De plus, Mobarakeh et *al.*, (2014), indiquent que l'extrait de *Satureja hortensis* réduit le taux de Cholestérol total à une dose de 400mg/kg) pendant une durée de 21 jours. Ces résultats sont compatibles avec ceux de Righi, (2010) qui a enregistré une diminution de la cholestérolémie chez les rats traités par rapport aux rats témoins après un traitement par les poudres des feuilles de Santoline.

D'après Bachtarzi, (2018), la cholestérolémie présente une diminution notable chez les rats traités (mâles et femelles) par l'extrait aqueux de *Teucrium polium* L.

Le même auteur note une augmentation des protéines totales et une baisse de glucose dans les lots traités mâles et femelles ainsi qu'une perturbation du bilan rénal (augmentation

de créatinine et l'urée) a été enregistré. De même Esmacili, (2009) a signalé une diminution du glucose chez des rats diabétiques traités par l'extrait aqueux de la même plante pendant 6 semaines et par voie orale. Ces résultats corroborent avec ceux de (Zal et al., 2001; Rasekh et al., 2001 ; Karimi et al., 2002 ; Shahraki et al., 2007) .

Pour les résultats de la fonction rénale , Lacheheb et Mettai, (2020) ont noté une diminution du taux d'acide urique chez les rats traités par l'extrait de *Satureja calamintha* en comparaison avec celui des témoins. D'après Bounihi, (2016), les paramètres biochimiques à savoir (TGO, TGP, Cholestérol, Protéines totales, la créatinine et l'urée) n'ont connu aucune différence chez les rats traités par *M rotundifolia* par rapport aux lots témoins.

3.4. Etude histopathologiques

3.4.1. Evaluation du poids relatif des organes prélevés

La variation du poids relatif des organes prélevés des souris traitées par les différentes doses des huiles essentielles et des souris des lots témoins est illustrée par le tableau 42.

L'évolution du poids de chaque organe (foie, reins, cœur et cerveau) apparait semblable entre les lots témoins et les lots des souris ayant subi le traitement. Le test ANOVA est significatif avec $P= 0,05$. $F_{cal}= 0,01566174$ et $F_{théo}= 2,06660848$

Tableau 42. Evolution du poids relatif des organes des souris traitées et non traitées par les huiles essentielles.

sexe	<i>M. rotundifolia</i>		<i>M.pulegium</i>		<i>S. calamintha</i>		<i>T. vulgaris</i>		<i>S. molle</i>		Témoins	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Foie	2,12 ±0,08	2,37 ±0,04	2,65 ±0,09	1,91 ±0,11	2,36 ±0,05	1,84 ±0,07	1,83 ±0,08	1,94 ±0,07	2,13 ±0,06	2,43 ±0,06	2,10 ±0,06	2,15 ±0,07
Reins	0,71 ±0,03	0,65 ±0,03	0,64 ±0,03	0,73 ±0,03	0,85 ±0,07	0,69 ±0,03	0,79 ±0,03	0,90 ±0,04	0,65 ±0,04	0,55 ±0,02	0,68 ±0,03	0,72 ±0,04
Cœur	0,19 ±0,02	0,20 ±0,03	0,21 ±0,03	0,20 ±0,03	0,19 ±0,02	0,23 ±0,01	0,22 ±0,01	0,22 ±0,01	0,24 ±0,01	0,22 ±0,02	0,22 ±0,01	0,23 ±0,03
Cerveau	0,45 ±0,02	0,42 ±0,02	0,44 ±0,02	0,43 ±0,02	0,44 ±0,03	0,46 ±0,03	0,43 ±0,01	0,50 ±0,01	0,52 ±0,01	0,45 ±0,02	0,44 ±0,01	0,46 ±0,01

- On peut conclure que les huiles essentielles testées n'ont aucun impact négatif sur les organes cibles.

3.4.2. Examen anapathologique

- Le foie

Les résultats des observations microscopiques des coupes histologiques au niveau du foie des souris (mâles et femelles) traitées par les différentes huiles essentielles et au niveau du foie des témoins sont illustrés par la figure 60

L'examen microscopique n'a révélé aucune anomalie dans l'architecture des cellules et aucune pathologie caractéristique par rapport au lot témoin. Le parenchyme hépatique semble normal chez les souris traitées quel que soit l'huile testée (Figure 60 : TM, TF) comme le lot témoin (Figure 60: TeM, TeF) avec la présence des hépatocytes (cellules hépatiques) menées par un noyau volumineux central, un cytoplasme, les cellules de Kupfer et d'un espaces portes. Au plan macroscopique, le foie est considéré comme étant l'organe le plus volumineux du corps des souris. Aucune particularité histopathologique n'a été présentée.

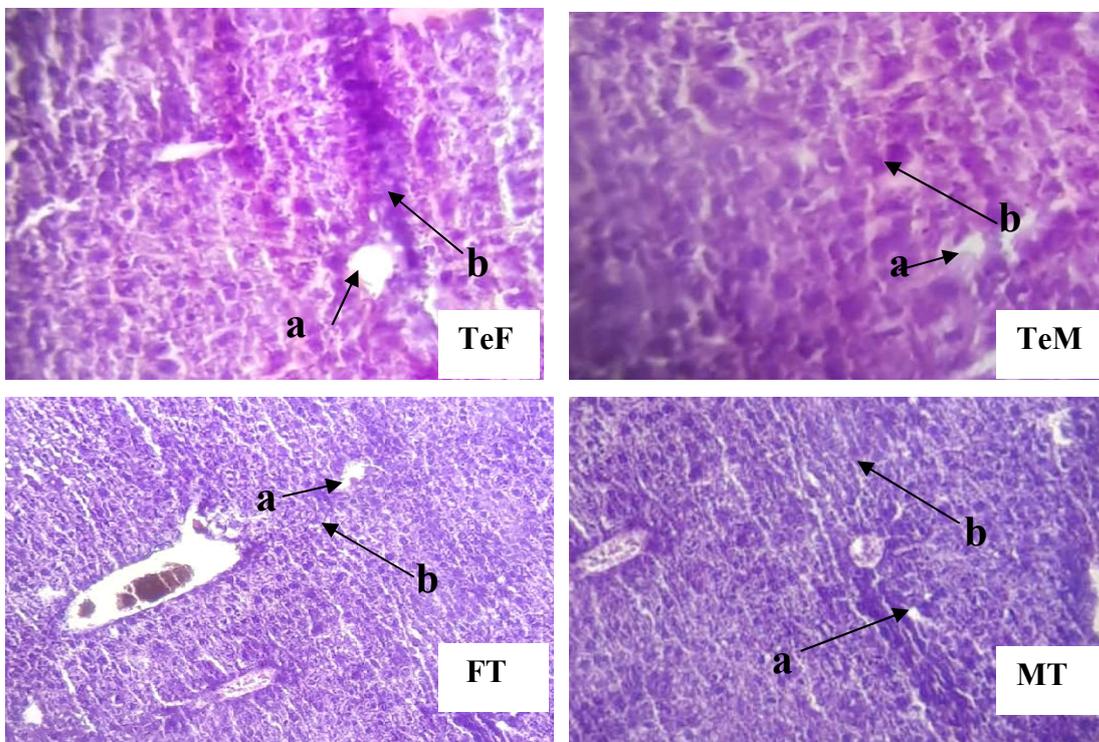


Figure 60: Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du foie chez des souris traitées et témoins (G×40)

TeF : Témoin mâle, TeM : Témoin femelle, MT : Mâle traité, FT: Femelle traitée
a : Veine Centro-lobulaire b : Cellules hépatiques (hépatocytes)

• Les Reins

L'examen microscopique des coupes histologiques du rein chez les souris traitées a permis d'observer un parenchyme rénal qui renferme des glomérules (Figure 61) qui est un principal filtre entouré d'une structure épithéliale appelée capsule de Bowman ainsi qu'un

tubule proximal. Cette observation est semblable à celle des souris des lots témoins (mâles et femelles) il n'y a aucun changement ni modification dans la structure des tissus.

Au plan macroscopique, le rein est un organe pair qui n'a présenté aucune particularité histopathologique remarquable.

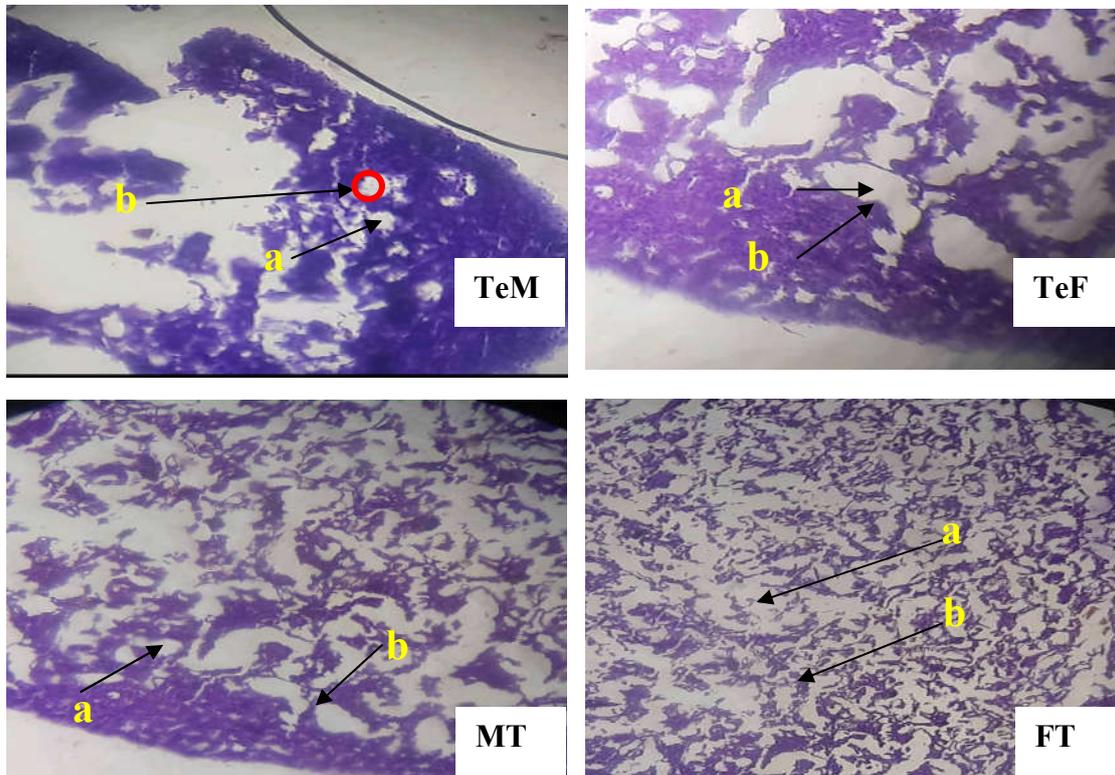


Figure 61 : Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du rein chez des souris traitées et témoins (G×40)

TeF : Témoin mâle, TeM : Témoin femelle, MT : Mâle traité, FT: Femelle traitée
a : Glomérule rénale b : Capsule de Bowman

• Le Cerveau

L'examen microscopique du cerveau des souris ayant subi des différents traitements à base des huiles essentielles a mis en évidence la présence des cellules du ganglion spinal et les fibres nerveuses myélinisées. Aucun signe pathologique ni inflammation sont observés et n'ont montré aucune différence par rapport au lot témoins.

Au plan macroscopique le cerveau n'a pas présenté des particularités histopathologiques visibles (Figure 62).

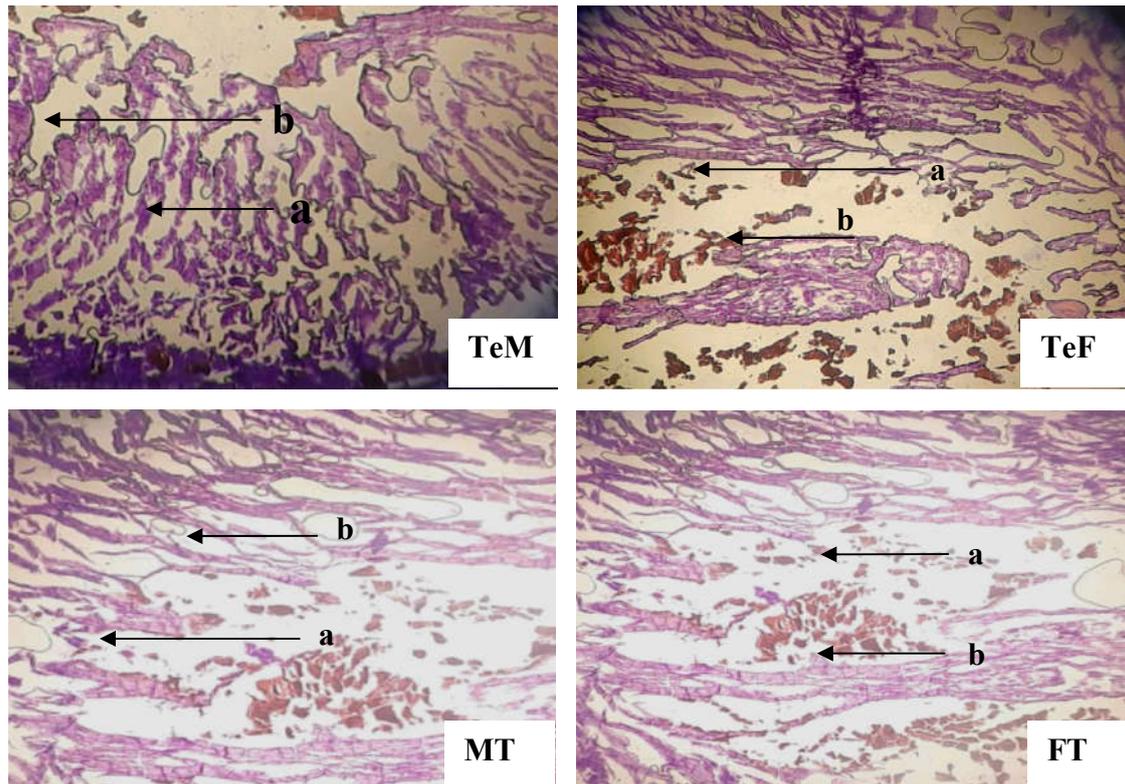


Figure.62 .Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du cerveau chez des souris traitées et témoins (G×40)

TeF : Témoin mâle, TeM : Témoin femelle, MT : Mâle traité, FT: Femelle traitée

- **Le Cœur**

Les résultats des observations microscopiques des coupes histologiques au niveau du cœur des souris (mâles et femelles) traitées par les différentes huiles essentielles et des témoins sont présentés par la figure 63. Il en ressort que la structure des tissus cardiaques est normale et semblable à celle des témoins.

Histologiquement, nos résultats ne présentent aucune anomalie ni modification au niveau des tissus des différents organes étudiés (foie, reins, cœur et cerveau) ce qui concorde aux résultats d'autres recherches :

Adli, (2015) a noté une amélioration dans le tissu hépatique des rats intoxiqués après un traitement par l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle), ces résultats se rapprochent à ceux suggérés par Shyamala et *al.*, (2003).

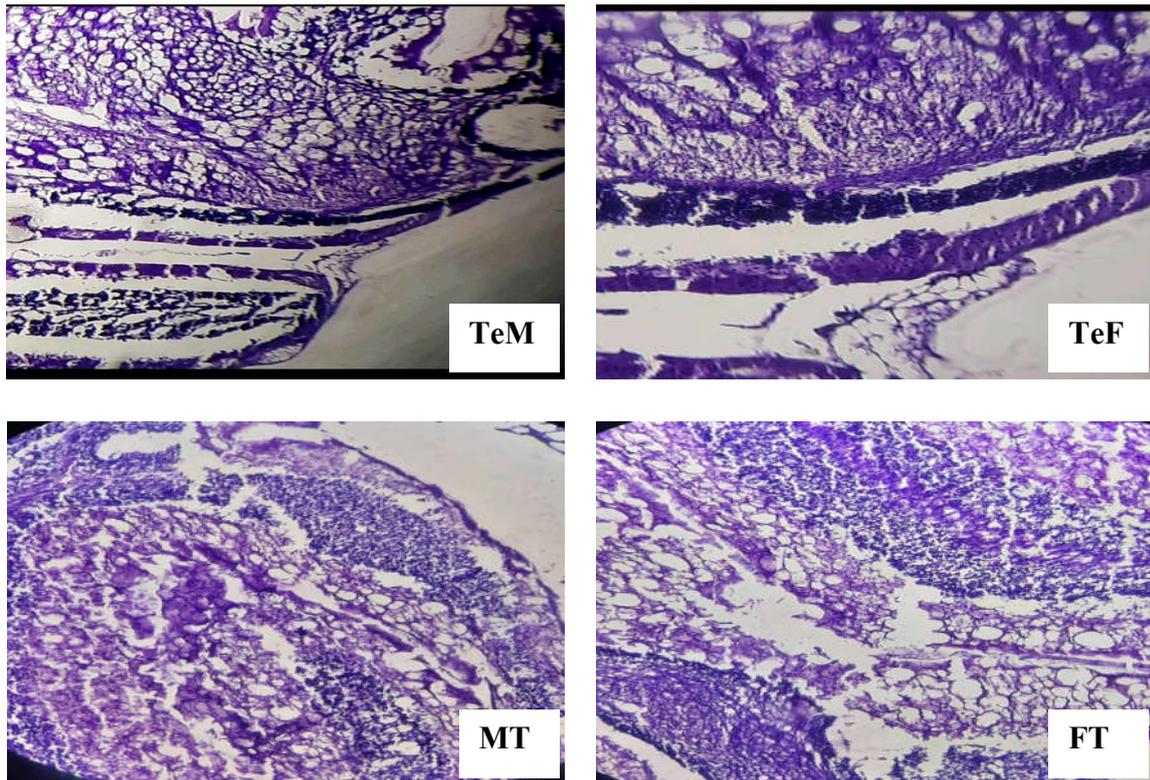


Figure 63: Observation microscopique d'une coupe histologique au niveau du cœur chez des souris traitées et témoins (G×40)

TeF : Témoin mâle, TeM :Témoin femelle, MT : Mâle traité, FT: Femelle

Righi, (2010) rapporte que l'observation microscopique des coupes histologiques effectuées au niveau du foie, des reins et au niveau du cerveau après le traitement des rats par la poudre de la Santoline et le Thym n'a révélé aucune anomalie apparente au niveau des différents tissus examinés. Bounihi, (2016) montre qu'aucun changement ou des perturbations morphologiques n'aient été observé au niveau des tissus des reins, du cœur et du foie chez les rats traités par *Mentha rotundifolia* par rapport aux témoins.

L'observation des coupes histologiques du foie et des reins des rats traités par *Tamus communis*, et *Teucrium polium* et les rats témoins a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire de ces deux organes (Krache, 2015).

Conclusion

A l'issue de cette étude toxicologique, il ressort que notre objectif est atteint, les huiles essentielles des cinq plantes testées n'ont marqué aucun effet toxique sur les souris que ce soit mâles ou femelles ce qui confirme l'usage de ces plantes comme bioinsecticides efficaces.

Conclusion Générale

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

CONCLUSION GENERALE

Le présent travail est élaboré dans le cadre de la gestion et la planification d'un programme de lutte intégrée contre deux importants ravageurs des denrées stockées (*Tribolium confusum* et *Sitophilus oryzae*) par utilisation de différentes méthodes de lutte à savoir: lutte biologique par utilisation des plantes médicinales et par utilisation d'un champignon entomopathogène, lutte physique et chimique. Cette étude a aboutit à une masse très importante de résultats très prometteurs dans le contexte de la protection des végétaux que nous pouvons conclure comme ainsi :

- l'identification moléculaire de *T. confusum* et *S. oryzae* en se référant au site NCB a précisé que l'ADN des espèces amplifiées est de 99,99% -
- L'étude des paramètres bioécologiques de *Tribolium confusum* nous a révélé que :

La durée moyenne du cycle biologique de l'insecte dans les conditions de notre expérimentation (28°C et H=70%) est de 30 ± 1 jours, l'incubation est de 7 ± 1 jours, la fécondité est de 150œufs, la fertilité est de 86.66% et le sexe-ratio est de 1.61 avec une longévité de 7 mois avec 10 générations qui se succèdent au cours de l'année.

Par ailleurs les paramètres bioécologiques étudiés de *Sitophilus oryzae* nous ont permis d'estimer une durée de vie de 6 mois dans les conditions de notre expérimentation déjà citée. La moyenne de ponte est de 18œufs /femelle cette dernière peut pondre 4 œufs dans un seul grain, son pourcentage de fertilité est de 83,33 % avec un sexe ratio de 1, 86. La calandre de riz peut atteindre 7 générations par an.

- L'inventaire des insectes nous a permis de dresser une liste des espèces qui appartiennent à deux ordres : les coléoptères et les lépidoptères. L'ordre des coléoptères comprend six espèces dont les plus fréquentes sont *Tribolium confusum* (58,23%) et *Sitophilus oryzae* (23.60%) et concernant l'ordre des lépidoptères l'espèce *Ephestia kuinela* est la plus fréquente (2.58%). Il ressort que *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum* sont très fréquentes dans le test

CONCLUSION GENERALE

réalisé sur le blé. Leurs pourcentages d'attaque (PA%) calculé est respectivement de 98,42% et 95%.

- La détermination du rendement d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation des parties aériennes à montrer des rendements variables qui sont respectivement 1.86%, 1.77%, 1.70%, 2.04% et 1.65% pour *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*.
- Les caractéristiques organoleptiques et physicochimiques de *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle* montrent respectivement une densité de: 0.810 mg/ml, 0,929 mg/ml, 0.860 mg/ml, 0,915 mg/ml et 0,880 mg/ml. Un indice de réfraction de : 1.399, 1.480, 1.484, 1.483 et 1. (+0.4) et aussi des pH de : 5.6, 5.4, 4.2, 5 et 04 respectivement.
- L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a permis d'identifier 362 composés dont les composants majoritaires sont: Carvacrol (36.61%), Gamma-Terpinene (2.99%), Carvomenthone (3.08%) et p-cimene (2.11 %).
- l'analyse qualitative des extraits aqueux de nos plantes a mis en évidence une richesse en polyphénols, en flavonoïdes, en tanins, en terpénoïdes, en quinones, en anthraquinones, en saponosides, en coumarines, en alcaloïdes et en hétérosides cardiotoniques.
- Les résultats du test anti radicalaire des huiles essentielles des cinq plantes médicinales nous permettent d'affirmer que ces huiles possèdent un effet antioxydant vis-à-vis du radical DPPH avec une Ic_{50} de l'ordre de 3.22, 4.77, 7.31, 4.71, 4.72 et 7.49 respectivement pour *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*.
- L'ensemble de méthodes de lutte (physique, chimique, biologique par

CONCLUSION GENERALE

l'utilisation des plantes médicinales et par *Beauveria bassiana*) testées nous ont permis de déduire ce qui suit :

- Pour la lutte biologique par l'utilisation des plantes médicinales: Les différentes huiles essentielles testées par contact attestent un effet significatif vis-à-vis des adultes mâles et femelles de *T. confusum* et *S. oryzae*, et les larves de *T. confusum* uniquement à la plus faible dose 5µl/ml avec un taux de mortalité qui atteint les 100% durant les premiers jours d'application.
 - Pour le test de répulsion, il en ressort qu'après deux heures d'exposition, les huiles testées pour chaque plante avec les doses (5,10 ,15et 20 µl/ml) et 3µl/ml uniquement pour *Mentha rotundifolia* s'avèrent très répulsives vis- à-vis des adultes de *S. oryzae* et *T. confusum*. Les poudres des différentes plantes testées ont marqué aussi leurs pouvoir biocide sur les ravageurs cibles notamment les poudres de *Mentha rotundifolia*, *Satureja calamintha*, et *Schinus molle* à la plus faible dose (0.8g), ont provoqué des taux de mortalité de 100% de *T. confusum* dès les premiers heures de l'application.
- Pour la lutte biologique par l'utilisation d'un champignon entomopathogène: Après 24h de l'application du traitement par *Beauveria bassiana* sur les adultes des deux insectes, nous avons noté un taux de mortalité de 8,75±0.47% individus chez *T. confusum* et de 9,66± 0.33% chez *Sitophilus oryzae* .tandis que pour les larves de *T. confusum*, nous avons enregistré un taux de mortalité de 7,66± 0.66% au bout de 24 heures qui atteint 10.00 ± 0.00 apres 98heurs d'exposition.
 - L'étude du pouvoir germinatif à démontré que toute les graines ont germé et toutes ont conservé leur pouvoir germinatif quelle que soit l'huile utilisée (*Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle*) avec un pourcentage de germination respectif (100%, 97%, 95%, 100% et 90%) comparativement aux témoins. Donc nous affirmons que ces plantes testées n'ont aucun effet sur les graines destinées à la semence.

CONCLUSION GENERALE

- la lutte chimique par utilisation du Thiazoline, nous a permis d'enregistrer des taux de mortalité de 100% à la faible dose utilisée (02µg/ml) après 72heures de l'application sur les adultes des deux ravageurs
- L'essai de la lutte physique par exposition des insectes à des températures maximales qui varient entre 37°C et 50°C a causé des taux de mortalité qui atteignent 100% après deux jours d'exposition. le même résultat est observé après le traitement avec une température minimale de -4°C.
- Pour l'étude toxicologique ,l'administration chronique des souris avec différentes huiles essentielles par voie intra péritonéale n'a révélé aucun impact négatif sur les organes cibles prélevés tel que le foie, le cœur, le cerveau.par contre l'ensemble des résultats obtenus sur les paramètres biochimiques a permis de souligner des effets bénéfiques de ces huiles testées sur les souris.

D'après cette étude, nous confirmons que les huiles testées semblent être de bons insecticides efficaces contre les deux espèces étudiées et à ne pas craindre lors de leurs utilisations au niveau des aires de stockage car ils ne présentent aucun risque aussi bien pour l'environnement que pour la santé humaine et animale.

Au terme de ce travail nous pouvons avancer que le développement d'une approche de lutte intégrée par le choix de plusieurs méthodes de lutte reste le moyen judicieux et efficace pour contrôler les populations des deux insectes sans présenter un risque pour l'environnement et la santé humaine et animale.

En guise de perspective :

Il sera judicieux par ailleurs, d'affiner cette étude avec des expérimentations ultérieures qui pourront nous amener à identifier les molécules bioactives responsables de l'effet insecticide de ces huiles, poudres et champignon vis-à-vis ces insectes.

Afin d'évaluer le spectre d'action des plantes médicinales il est important de cibler d'autres ravageurs et réaliser des essais pilotes dans les entrepôts de stockage afin de mieux évaluer l'efficacité de ces traitements en conditions réelles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

Abbassi K., Mergaoui L., Atay. Kadiri Z., Stambouli T A. &Ghaout S. 2005. Activités biologiques des feuilles de *Peganumharmala*(Zygophyllacea) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin. *Zool. baetica*, 16, 31-46.

Abbot W.S. A.1925. Method of computing the effectiveness of an insecticide J. Econ.Ent. 18, 265–267.

Abdelli I. 2017. Caractérisation physicochimique des huiles d'olive de quatre régions de la Kabylie et étude de leur activité biologique à l'égard des deux insectes Ravageurs des grains stockés, *Rhyzoperta dominica* et *Sitophylus granarius* . Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du master académique en agronomie.Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Abdelli W. 2017.Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*..Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie.

Abdel-Sattar, E., Zaitoun, A., Farag, M., El-Gayed, S. &Harraz, F. (2010). Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. Leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat. Prod. Res.* 25, 1e10

Abed S., Messaadia B., Djessas M. 2021 Etude des propriétés physicochimiques et biologiques de *Thymus vulgaris* L. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.Université des Frères Mentouri Constantine.

Abeledo L.G.,Savin R.,Gustavo A. And Slafer. 2008.Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *European journal of Agronomy.* 28. 541-550p

Abou N.,Fareh K.2017 .Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. En vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy B.B.A.

Adams, R.P. 2000.Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation,. No. Ed. 4 pp. viii+ 804 pp.

Adli D H .2015.Effet prophylactique de l'administration d'un extrait de *Syzygium aromaticum* (Clou de girofle) chez les rats Wistar en croissance intoxiqués au plomb et au manganèse. Etude biochimique, histologique et neurocomportementale. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat. Université Ahmed Ben Bella Oran .

AFNOR .2000.Recueil de normes Francaises "Huiles essentielles", AFNOR, Paris. AFNOR NFT 75-006. 2000

Agnihotri VK., Agarwal SG., Dhar PL., Thappa RK., Kapahi BK., Saxena RK.et Qazi GN.2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium* L growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Fragr. J.* 20: 607-610.

Aiboud K. 2011.Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et impacts des traitement sur la germination des graines de *Vigna unguiculata*,. Memoire de Magister en sciences écologie .U.M.M.T.O. 58p.

Aidani H. 2015. Effet des attaques de Capucin des grains (*Rhizopertha dominica*) sur les céréales stockées « Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif Cas de blé dur dans la région de Tlemcen ». Mémoire de master, Univ: Tlemcen, 80p.

Akbar W., Lord JC., Nechols JR., Howard RW. 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *J Econ Entomol* 97:273–280.

Al-Moajel NH, 2004. Testing some various powders for protection of wheat grain against *Tropoderma granarium* Everts. *Journal of Biological Sciences* 4 : 592-7.

Amari N. 2014. Etude du choix de ponte du bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et de pois chiche, et influence de quelques huiles essentielles : (Cèdre, Ciste et Eucalyptus) sur l'activité biologique de l'insecte. Thèse de Magister: commerce et d'industrie. Tizi-Ouzou : Université Mouloud Mammeri, 23-25p

Ammar M .2014 .Organisation de la chaine logistique dans la filière céréales en Algérie états des lieux et perspective. thèse de doctorat de CIHEAM Montpellier : p17-20.

Andersson N .1994. Sexual selection Princeton University Press, Princeton.

Appert J. 1992. Le stockage des produits vivriers et semenciers, Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, p. 109.

Athanassiou CG., Steenberg T. 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *BiolControl* 40:411–416.

Attou A. 2017. Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain T'émouchent). Etude de Leurs Activités Anti oxydante et Antimicrobienne. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie

Ayla K., Fatih S. and Fatih G. 2009. Nutlet surface micro morphology of Turkish *Satureja* (Lamiaceae), *Biologia* 64 5: pp. 902-907, 2009.

Aziez M, Hammadouche O., Mallem S et Tacherifet S. 2003. Le guide pratique pour l'agréeur céréales et légumineuses alimentaires. C.N.M.Z, Algérie, 55 P.

Baba Aissa F. Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident, Ed. Librairie moderne (Rouiba). 46,2000.

Bachtarzi K. 2018. Evaluation du potentiel pharmacologique et hépatotoxique du *Teucrium polium* L. These en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat. Université de Constantine .

Badr F. 2014. La qualité Sanitaire des denrées stockées et les techniques de

Bajji M. 1999. Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants somaclonaux sélectionnés In vitro. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.

Balachowsky A., Mensi L. 1936. Les insectes nuisibles aux plantes cultivées leurs destructions. Ed. Etablissement Busson, Paris, T.II, III, Pp : 1722-1724.

- Barbat C., Rodino S., Petrache P., Butu M.; Butnariu M.2013.Microencapsulation of the allelochemical compounds and study of their release from different, *Digest journal of nanomaterials and biostructures*, 8(3), 945–953
- Bayramoglu, E.E., Gulumser, G., Karaboz, I. 2008. The investigation of antibacterial activities of some essential oils in wet blue leather. *Int. J. Nat. Eng. Sci.*, 2(1): 33-36.
- BeghidjaN., Bouslimani N., Benayache F., Benayache S et Chalchat J.C.2007.Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria. *Chem. Nat. Comp.* 43: 481-483.
- Bekele, J., Hassanali, A. 2001. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimumkilimandscharicum* and *Ocimumkenyense*(Labiatae) on two post- harvest insect pests. *Phytochemistry*, 57, 385- 391
- Bekon K., Fleurat-Lessard F.1989. Evolution des pertes en matière sèche des grains dus aux ravageurs secondaires:*Tribolium castaneum* (Herbst)(Coléoptère : Tenebrionidae), lors de la conservation des céréales. In Céréale en région chaudes. AUPELF-UREF,John Libbey Eurotext,Paris, pp 97-104.
- Belemassoud R. 2013. Mise en valeur les huiles essentielles du faux poivrier. Thèse de Master. Université Kasdi merbah Ouregla
- Belmouaz A.2004. Contrôle phytosanitaire et surveillance des denrées stockées : Agréage et protection phytosanitaire. 1 ère édition. Algérie : O.A.I.C (Office Algérien Interprofessionnel des Céréales), 18-34p.
- Belot A. 1978. Dictionnaire des arbres et arbustes de jardins. Ed. Bordas, Paris.
- Benabed K H., Gourine N., Ouinten M., Bombarda I., Yousfi M. 2017. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Three Algerian Lamiaceae Species. *Current Nutrition and Food Science*, Bentham Science Publishers, 13 (2), pp.97 – 109.
- Benayad N. 2013. Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse, faculté des sciences, Université de Mohammed V – AGDAL. 186 p.
- Benayad N., Ebrahim W., Hakiki A., Mahjoubam. 2012.Chemical characterization and insecticidal evaluation of the essential oil of *Mentha suaveolens* L. and *Mentha pulegium* L. growing in Morocco. *Sci. Study Res.* 13 (1), 027–032.
- Benayad N.2008 .Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc.
- Benazzouz A ., Hamdane A.2012.Etude et analyse des plantes médicinales Algérienne : *Mentha pulegium*, *Mentha rotundifolia* et *Mentha spicata* L. Mémoire Présenté pour obtenir le Grade de master .Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
- Bencharif A., Rastoin J.L. 2007. Concepts et Méthodes de l'Analyse de Filières Agroalimentaires : Application par la Chaîne Globale de Valeur au cas des Blés en Algérie. Working Paper. 7 : 1-23.

Benhamidat L.2018.Etude chimique et biologique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques exploitées au niveau de la pépinière d'Ain fettouh.Pour l'obtention du diplôme de : Master en chimie.Université Abou bekr BELKAÏD de Tlemcen.

Benmehdi H .2000.Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université de Tlemcen.

Berhaut .2003 .Stockage et conservation des grains à la ferme (qualitéstockage), stockage à la ferme, (arvalis – institut du végétal) et Jean-Pierre Criaud (grceta de l'évèreucin), ARVALIS - Institut du végétal

Bitsadze, N., Jaronski, S., Khasdan, V., Abashidze, E., Abashidze, M., Latchininsky, A., Samadashvili, D., Sokhadze, I., Rippa, M., Ishaaya, I., & Horowitz, A. R. (2013). Joint action of *Beauveria bassiana* and the insect growth regulators diflubenzuron and novaluron, on the migratory locust, *Locusta migratoria*, J. Pest Sci, 86, 293–300. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0476-4>

Bonnetone F.2010.Quand Tribolium complète la génétique de la drosophile. *Medecine/Sciences*,26 : 7p

Botineau M. 2010 . Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition TEC & DOC. Lavoisier. P 958.

Bouchikhi Tani Z., Bendahou M., Khellil M.A. 2010. Lutte contre la bruche

Bouchra C., Achouri M., Idrissi Hassani L M.et Hmamouchi M.2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *Phytochem.* 89: 165-69.

Bougandoura N., Bendimerad N.2012.Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp.*Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie* .

Bouguerra N., Djebbar F.T., Soltani N. 2017. Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 4(1): 37-42.

Bouhaddouda N. 2016. Activités antioxydantes et antimicrobienne de deux plantes du sol Local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat, université Badji Mokhtar, Annaba, 205 p.

Boukerika S.,Boumimiz S.,Hariti S.2019.Activité antioxydante de *Thymus vulgaris* L., *Cynoglossum creticum* Mill. et *d'Arum italicum* Mill. de la wilaya de Jijel (étude in vitro) .Mémoire de Master.

Bounihi A.2016.Criblage phytochimique, Etude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de doctorat national Scionces du Médicament, 2016, p : 122.

Bouzabata A. 2020. Médecine traditionnelle et COVID-19: croyances et réalités 01/04/20 publié dans 20 ans Sci Dev Net, Edition : Afrique Sub – Saharienne

Brada M., Bezzina M., Marlier M., Carlier A., Lognay G.(2007). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha Rotundifolia* du nord de l'Algérie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11(1) : 3-7.

- Bremness L. 2001 .plantes aromatiques et médicinales. BORDAS, France, 303.
- Bulot S.1990.traitement a la carte pour le grain stocké,Ed,Sémi.univ usa vol 63 :140-142.
- Butnariu M.2012.An analysis of *Sorghum halepense's*behavior in presence of tropane alkaloids from *Datura stramonium* extracts, *Chemistry central journal*, 6(75).
- Butt T.M.1990. Fungal infection provéssus. A mini review Vth Int. Colloq. Invertebr. Pathol. Adelaide. Soc. for Invertebr. Pathol. Pp 212-214.
- Calderini DF, Abeledo LG., Slafer GA. 2000. Physiological maturity in wheat based on Kermel water and dry matter. *Agronomy Journal*92, 895-901 P.
- Camara A.2009. Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (*Coleoptera* : *Curculionidae*) et *Tribolium castaneum* Herbst (*Coleoptera* : *Tenebrionidae*) dans les stocks de Riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en Basse-Guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales.
- Caron D. 2000. caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et Maladies des céréales et des orges. ITCF. Paris. 30-39 P.
- Carpinella MC, Defago M, Valladares G, Palacios SM.2003. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 : 369-74.
- Cheftel, J.C & Cheftel, H.1977. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp. 105-130.
- Chekkal K et Derradji S. 2015. Evaluation de l'effet insecticide de deux huiles
- Chopa C.S., Alzogaray R.A., Ferrero, A.A. 2006. Repellency Assays with *Schinus molle* var. *areira* (L.) (Anacardiaceae) essential oils against *Blattella germanica* L. (Blattodea: Blattellidae). *BioAssay*, 1(6).
- Clevenger JF .1928.Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am Perf Ess Oil Review* 467-503
- Codon B., et Wilm C.1991. Les industries de premières transformations des céréales, Ed. Lavoisier, Paris, pp. 192-199
- Cook J., Johnson V.A., Allan R. E.1991. Le blé.In :Greef.M.W.(Eds). Méthodes traditionnelles de sélection des plantes: un aperçu historique destiné à servir de référence pour l'évaluation du rôle de la biotechnologie moderne. Organisation de coopération et de développement économiques, Belgique, pp 27-38
- Cruz J., Troude F.1988. Conservation des grains en régions chaudes. Techniques rurales en Afrique: Collection du Ministère de la Coopération et du Développement.CEEMAT/CIRAD, Montpellier, 548 p.
- Cruz J-F., Diop A. 1989. Génie agricole et développement : techniques d'entreposage. Rome : FAO, 126 p.
- Cruz.J, D. joseph hounhouigan et francis fleurat-lessard avec la collaboration de francis troude .2016. La conservation des grains après récolte Quæ CTAP resses agronomiques 2016 page 165 et 168.de variants somaclonaux sélectionnés *In vitro*. Thèse de doctorat. Univ. Louvain.

- Cryz JF., Troude F., Griffon D., Hebert JP.1988. Conservation des grains en région chaudes ; 2^{ème} édition ; « Technique rurale en Afrique ».Ed. Paris, France.
- D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, R. Vila, and S.2002. Canigüeral, Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay,”
Braz. Arch. Biol. Technol. Int. J., vol. 45, no. 4, pp. 519–524, 2002.
- Dajoz R.1976. Précis d'écologie. Ecologie fondamentale et appliquée. Ed. Dunod. Paris, 195p.
- Dawson P.S. 1964.Age at sexual maturity in female flour beetles *Tribolium castaneum* and *T. confusum*. Ann. Ent. Soc. Am., 57,1-3.
- Delobel A., TRAN M. 1993 .Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Ed. Orstom, Paris: 103 – 106, 275 – 278, 312 – 316, 342 – 343 .
- Descamps, L.R., Stefanazzi, N., Sánchez, C, Ferrero, A.A. 2008. Actividad biológica de extractos vegetales de *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) en *Tribolium castaneum* Herbst. (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae), plaga de grano almacenado. Boletín Sanidad Vegetal, 34, 595-605
- Deveci O., A Sukan., N Tuzun et E. E Kocabas .2010. Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(21), pp. 2211-2216, 4 .Ege University, Faculty of Science, Department of Biology, Zoology Section, 35100, Bornova, Izmir, Turkey.
- Diome T., Thiaw C., Guèye AC., Ndong A., Sarr M., Cissé N., Sembène M.2014. L'effet de la
- Djahra A .2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. these en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat ,Université Anaba .
- Djebari B. 2005. Contribution à la connaissance des bactérioses du blé, de l'orge et du altriticale. Thèse. Maj. Agr., INA. El-Harrach. 92 P.
- Dongre T., Rananavare H., Padwal Desai S.1997. Influence of gamma radiation on oviposition and egg viability of *Callosobruchus maculatus* F. and grain loss in mungbean storage. India : Journal of Nuclear Agriculture and Biology, 26 (3), 161-163p.
- Doumandji, A., Doumandji-Mitiche, B. & Salaheddine, D. 2003. Cours de technologie des céréales technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des Publications Universitaires, pp. 1-22
- Druvefors, U.Ä. 2004. Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds Mode of Action of *Pichia anomala*. Doctoral thesis. University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. Agraria 44-466
- Duraffourd C., Laprez C et Chemli R .,1997 :les plantes medicinales de la tradition a la science .edition grancher
- Ducom P. et Bourges F.1987. Dernières tendances dans la protection des grains stockés. Phytoma. Déf. Des Cultures, N° 385, pp. 38-39.
- Dupont F., Guignard J.L. 2007. Botanique : Systématique Moléculaire. 14^{ème} Ed. Masson, Paris-France.

- Dupont Frédéric, Guignard Jean-Louis. 2012. Botanique : Les familles de plantes, Elsevier, Masson, Issyles-Moulineaux 2012.
- Duron, B.S.1999. Le Transport Maritime des Céréales. Mémoire de D.E.S.S.
- Dwivedi, S. C. and N. B. Shekhawat.2004. Repellent effect of some indigenous plant extracts against *Trogoderma granarium* (Everts). *Asian J. Exp. Sci.* 18(1&2):47-51.
- Eberhard T., Anton R., Lobstein A. 2005. Plantes aromatiques. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris-France
- Ech-Chahad A., Farah H., et Bouyazza L.2013. Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc, *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 77-81.
- Edeoga, H.O., Okwu, D.E., Mbaebie, B.O. 2005. Phytochemicals constituents of some Nigerian medicinal plants. *Afr. J. Biotechnol.*, 4(7): 685-688.
- El Ouali Lalami. A , El-Akhal .F , Ouedrhiri .W , Ouazzani C.F. Guemmouh R. Greche H. 2013. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgaris* et Référence Bibliographique *Thymus satureioïdis* les technologies de laboratoire -, volume 8, n°31
- El-akhal H., Greche F., Ouazzani Chahdi R., Guemmouh A., El Ouali Lalami A. 2015. Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(1): 214-219.
- El-Ghorab AH. 2006. The chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *J. Essential oil Bearing Plants*, 9: 183–195.
- Enobakhare D.2007The use of leafpowders of *Ocimumgratissimum*and *Vernonia amygladina*for the management of *Sitophilus oryzae*(L.) instoredrice. *J. Entomol*, 4, pp: 253-257.
- Epidi T.T., Odili E.O.2009. Biocidal activity of selected plant powders against *Tribolium castaneum* Herbst in stored groundnut (*Arachis hypogaea* L.) *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 2009;3:001–005.
- Esmaeili MA, Zohari F, Sadeghi H. 2009. Antioxidant and protective effects of major flavonoids from *Teucrium polium* on β -cell destruction in a model of streptozotocin-induced diabetes. *Planta Med.* 75:1418–1420.
- Evers., Millar S. 2002. Cereal grain structure and development ; some implications for quality. *Journal of cereal science* 36, 261-284 P.
- FAO.2022. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Bulletin de la Fao sur l'offre et la demande des céréales.
- Faria, M. et Wraight, S.P. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*. 20, 767-778.
- Feillet P. 2000. Le grain de blé composition et utilisation. 1ère édition. INRA. Paris, P303.

- Ferdjioui S. 2014 .Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanolique et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*.Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie Université de Ferhat Abbas, Sétif.
- Ferreira, M. S. L. 2011. Dynamique d'assemblage des protéines de réserve et du remplissage du grain de blé dure. Thèse. Doctorat. Centre international d'études Supérieures en sciences Agronomiques de Montpellier, 261 P. France, 412P. Francisco, pp 67-79.
- Ferrero, A.A., Chopa, C.S., Gonzalez, J.O.W., Alzogaray, R.A. 2007. Repellence and Toxicity of *Schinusmolle*Extracts on *Blattellagermanica*. Fitoterapia., 78(4): 311-314.
- Fields, P. G. 1992. The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. J. Stored Prod. Rev. N°34. Pp 269-277.
- Fleurat-Lessard, F.1984.Evolution biologique et physique d'un stock de blé tendre en présence d'un e infestation par le charançon: *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera :
- Fourar, R. 1994 - Variabilité de la sensibilité variétale du blé tendre à *Sitophilus oryzae*(L) ((Coleoptera: Curculionidae) dans le grain et de *Tribolium confusum* J. Duval ((Coleoptera: Tenebrionidae) dans la farine. Analyse des relations ecophysiques insecte-grain thèse de Magister Ins. Nat. Agro. D'EL HARRACH, ALGER.
- Fredot E. 2005.Connaissance des aliments. 1ère édition. Lavoisier. Paris,3 from the leaves of *Mentha longifolia* L.subsp.capensis against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Afr. Entomol. 16, 220–225.
- Gallo D., Nakano, O., Silveira Neto S., Carvalho R.P.L., Baptista G. C., Berti Filho E., Parra J.R.P., Zucchi R. A., Alves S.B. and Vendramin J. D.2002. Entomologia Agrícola (Agricultural Entomology). Piracicaba, SP, Fealq, 920 p.
- Gamisans J. et Jeanmonod D. 1993 : Catalogue des plantes vasculaires de la Corse, secondes édition, Edition des conservatoires et jardins botaniques de la ville de Genève, Chambésy, 1993.
- Gaston B.1990. La grande flore en couleurs. Ed Belin. Paris. France
- Gherib A.2015 .Caracterisation physicochimique et biochimique d'un extrait d'*Olea europea.oleaster* et détermination de ses effets sur certains parametres biologique.these en vue de l'obtention d'un diplôme de Doctorat ,Université Anaba .
- Gopal DV. & Rosen HR.2000. Abnormal findings on liver function tests. Interpreting results to narrow the diagnosis and establish a prognosis. Postgraduate Medical Journal, 107(2):100-2, 105-9, 113-4.
- Goucem - Khelfane K.2014. Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles et despoudres de quelques plantes à l'égard de la bruche du haricot *Acanthocelides obtectus* Say (Coleoptera,Chrysomelidae, Bruchinae) et comportement de ce ravageur vis-à-vis des composés volatils de différentes variétés de la plante hôte (*Phaseolus vulgaris* L.). . Thèse. Doc en Sciences en Biologie. Univ. Tizi ouzou .
- Green RM. & Flamm S. 2002. AGA Technical review on the evaluation of liver chemistry tests. gastroenterology, 123: 1367-84

- Gretia.2009. Etat des lieux des connaissances sur les invertébrés continentaux des Pays de la Loire ; bilan final. Rapport GRETIA pour le Conseil Régional des Pays de la Loire. 396 p
- Grossman, E.F.1931. Heat treatment for controlling the insect pests of stored corn. Fla. Agr. Expt. Sta. Bull. 239:3-24.
- Guèye M.T., Seck D., Wathelet J-P. et Lognay G. 2011. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 15(1): 183-194.
- Guignard JL.1996. Biochimie Végétale. Ed Masson, Paris.
- Guignot F.1957. Faune de France. Coléoptères hydrocantharés, Paris, 424p.
- Güllüce M, Sökmen M, Daferera D, Açar G, Ozkan H, Kartal N, Polissiou M, Sökmen A, Sahin F.J Agric Food Chem. 2003 Jul 2;51(14):3958-65. doi: 10.1021/jf0340308.
- Gupta A., Chyi Y.S., Romero-Sevrson J. et Owen J.L., 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. Theoretical and Applied Genetics 89: 998-1006.
- Hadjou Z .2002. Evolution de la sensibilité de certaines variétés de pois-chiche et deharicot à l'égard de *callosobruchus macullatus* *F(coleopetera bruchidae)* et activité biologique d'extraits de plantes sur ce ravageur 93p.
- Hagstrum, D.W., Flinn, P.W.1994. Survival of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat under fall and winter temperature conditions. Environmental Entomology 23, 390–395
- Halouane, F., Benzara, A., Doumandji-Mitiche, B., & Bouhacein, M. 2001. Effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride*(Hyphomycètes : Deuteromycotina) sur l'hémogramme des larves de 5ème stade et des adultes de *Locusta migratoria migratoroides* (Orthoptera : Acrididae), Journal of Orthoptera Research, 10(2), 331–334.
- Hammadache A.2013. Elements de phytotechnie générale : Grandes culture-Tom I : Le blé. 1ère édition. Mohamed Amrani. 49-69 P.
- Hansen LS., Steenberg T .2007. Combining larval parasitoids and an entomopathogenic fungus for biological control of *Sitophilusgranarius* (Coleoptera: Curculionidae) in stored grain. Biol Control 40:237–242
- Hassani A., Sehari N., Sehari M., Bouchenafa N.1., Labdelli F., Kouadrie M. 2017.Etude des propriétés insecticides et bactéricides de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. dans la lutte contre les ravageurs des semences et denrées stockées. Revue Écologie-Environnement (13), ISSN: 1112-5888
- Holdaway F.G. 1932. An experimental study of the growth of populations of the flour beetle, *Tribolium confusum* (Duv.) as affected by atmospheric moisture. Ecol. Monogr., 2, 261-304
- Holloway, G.J. 1985. The effect of increased grain moisture content on some life history characters of *Sitophilus oryzae* (L.) after staining egg plugs with acid fuchsin. J. Stored Prod. Res. 21 : 165-169

- Howe R.W. 1962. The effects of temperature and humidity on the oviposition rate of *Tribolium castaneum* (Hbst.) (Coleoptera, Tenebrionidae). *Bulletin of Entomological Research* 53: 301-310
- Huang Yan H., Shuit H., kini .1999. Bioactivity of safrol and isosafrol on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae) and *Tribolium confusum* (Coleoptera : Tenebrionidae) .*Journal of economic entomology* , Vol .92, N°3, pp:676-683.
- Huang Yan H., Shuit H., kini .1999. Bioactivity of safrol and isosafrol on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae) and *Tribolium confusum* (Coleoptera : Tenebrionidae) .*Journal of economic entomology* , Vol .92, N°3, pp:676-683.
- Huignard J., Glitho I., Monge J., Regnault-Roger I. 2011. Insectes ravageurs des graines de légumineuses, biologie des Bruchinae et lutte raisonnée en Afrique. Edition Quae .France. 147p.
- Humber R.A. 2012. Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of techniques in invertebrate pathology*. Published by Elsevier Ltd. pp151-187
- Hyerisam. 2013 .Propriétés médicinales de la menthe pouliot. (*Mentha pulegium*.L)
- Ishii, M., Takeshita, J., Ishiyama, M., Tani, M., Koike, M., & Aiuchi, D. 2015. Evaluation of the pathogenicity and infectivity of entomopathogenic hypocrealean fungi, isolated from wild mosquitoes in Japan and Burkina Faso, against female adult *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Fungal Ecology*, 15, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.02.002>
- Ismaili R., Houbairi S., Lanouari S., Moustaid K et Lamiri A. 2017. Etude De L'Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Plantes Aromatiques Et Médicinales Marocaines. *European Scientific Journal* April 2017 edition Vol.13, No.12 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- Jaber, L.R.; Enkerli, J .2016 .Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biol. Control* .103, 187–195
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., & Stevens, P. 2002. *Botanique systématique: une perspective phylogénétique*: De Boeck Supérieur.
- Jurgen K., Heina S et Werner K .1981. Maladies, Ravageurs et mauvaises herbes des cultures Tropicales, Vol 23(1) ., Pp1-13.
- Kamp A.M et Bidochka M.J .2002. Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars. *Lett. App. Microbiol.* 35 :74-77
- Karahacane T. 2015. Activité insecticide des extraits de quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes du blé en post récolte. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger, Algérie
- Karimi F, S. abbasi, Arbateni. 2002. The effect of *Teucrium polium* on blood glucose in diabetes mellitus type 2; A comparison with glibenclamide. *Iran South Med. J.*, 2: 96-103.
- Karumi Y, Onyeyili PA, Oyugbuaja VO. 2004. Identification of active principals of *M. Balsamiae* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci* 4: 179–182.
- Kasimala, M. B., & Kasimala, B. B. 2011. A review on brazilian pepper plant: *Schinus molle*. *Jornal of Atoms and Molecules*, 2(2), 6–13.

- Kassa, A.; Zimmermann, G.; Stephan, D.; Vidal, S. 2002. Susceptibility of *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) to entomopathogenic fungi from Ethiopia. *Biocontrol Science and Technology*, v. 12, n. 6, pp. 727-736
- Kassemi N. 2014 .Activité biologique des poudres et des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (*Pseudocytisus integrifolius* Salib et *Nepeta nepetella* L.) sur les ravageurs du blé et des légumes secs. Thèse de Doctorat en Biologie. U.A.B.T. : 90 – 92.
- Kaushal K.Sinha ,Ajoy Kr. Choudhary ,PriyankaKumari.2016.Lutte antiparasitaire respectueuse de l'environnement pour la sécurité alimentaire ,Chapitre 15 - Champignons entomopathogènes , Pages 475-505.
- Kebissi H.2004.Encyclopédie des herbes et plantes médicinales, Dar Al-Kotob Al-Ilyah, Berouth-Liban, 56
- Kehe M. 1975. Expérimentation pour la mise au point d'un protocole d'essai de substances insecticides pour la lutte contre les charançons des grains:*Sitophilus granarius* (L) et *Sitophilus oryzae* (L). Mémoire D. A. A. ENSAM, Montpellier, 55p.
- Kellou R.2008. Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréaliers français dans le cadre du pôle de compétitivité Quali-Méditerranée. Le cas des coopératives Sud Céréales, Groupe coopératif Occitan et Audecoop, 168p. Thèse de master en Sciences du CIHEAM-IAMM.
- Kemassi, a. Herouini, s. A. Hadj, r. Cherif, m. D. Ould elhadj. 2019.Effet insecticide des extraits aqueux d'euphorbia guyoniana (euphorbiaceae) recoltée dans oued sebseb (sahara algerien) sur le tribolium castaneum .Lebanese Science Journal, Vol. 20, No. 1, 2019. <http://dx.doi.org/10.22453/LSJ-020.1.055-070>.
- Kerbouche L., Hazzit M., et Baaliouamer A.2013. Essential oil of *Satureja calamintha* subsp. *nepeta* (L.) Briq. From Algeria: Analysis, antimicrobial and antioxidant activities, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(4), 266- 272.
- Khashaveh A, Ghosta Y, Safaralizadeh M, ZiaeeM.2011.The Use of Entomopathogenic Fungus,*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Assays with Storage Grain Beetles. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 35-43.
- Khashaveh A, Ghosta Y, Safaralizadeh M, ZiaeeM.2011.The Use of Entomopathogenic Fungus,*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Assays with Storage Grain Beetles. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 35-43.
- Khenaka K.2011.Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovine, Mémoire pour l'Obtention du Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée Option: Biotechnologies Microbiennes, Université Mentouri Constantine
- Kim S., Roh JY., Kim DH., Lee HS., AhnYJ. 2003.Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J Stored Prod Res*.39 (3).293–303.
- kizil S., Hasini N., Tolan V., Kiliç E. and Yüksel U. 2010. Mineral content, essential oil components

- Kokkini S., Handilou E., Karousou R. et Lanaras T. 2002. Variations of pulegone content in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants growing wild in Greece. *J. Essent. Oil Res.* 14: 224- 227.
- Krache I. 2015. Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *Tamus communis* L. et *Teucrium poilium* L. sur des rats blancs Albinos Wistar .memoire pour l'obtention du diplôme de magister .université de Farhat Abbas Setif .
- Kumar, A., Bello, B., Reichert, H. 2009. Lineage-specific cell death in postembryonic brain development of *Drosophila*. [Development 136\(20\): 3433--3442.](#)
- Labbé, R. M. 2005. Intraguild interactions of the greenhouse whitefly naturel enemies, predator *Dicyphus hesperus*, pathogen *Beauveria bassiana* and parasitoid *Encarsia formosa*, mémoire de maîtrise (M. Sc.), Université Laval, Québec, Canada, 75p.
- Labiou, R. 2016. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité anti oxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.
- Lachheb D et Mettai H. 2020. effet du *Satureja calamintha* L. Lamiacea sur le syndrome métabolique induit par le fructose (Etude subaigue). memoire en vue de l'obtention du diplôme de Master .Université des Freres Mantouri Constantine .
- Lacoste P. 1970 . La défense des cultures à Madagascar. 190-191.
- Ladjet S., Gherraf N., and Hamada D. 2011. Antimicrobial effect of essential oils from the Algerian Medicinal plant *Mentha rotundifolia* L. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(11) : 1665-1667.
- Laffont J.M. 1985. Le désherbage des céréales. *Encyclopédie Agricole Pratique*. Ed. La nouvelle librairie, Paris, 96 P.
- Lahlou M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research*. 18: 435-448.
- Lakhial S. 2018. inventaire des insectes et des maladies des denrées stockées .Memoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master .sciences agronomiques .Université Akli Mouhande Oulhadj-Bouira
- Lamendin H. 2007. Soignez votre bouche par les plantes: Remèdes d'hier et d'aujourd'hui. Vol. 5. 2007: Editions L'Harmattan
- Lawrence B. M. 2007. Mint: The genus *Mentha*. Medicinal and aromatic plants- industrial profiles. CRC Press/Taylor & Francis: Boca Raton, FL. pp 4
- Lednev, G. R., Kryukov, V. Y., Khodyrev, V. P., Levchenko, M. A., Duisembekov, B. A., Sagitov, A. O., & Glupov, V. V. 2008. Dynamics of mortality of the migratory locust under synchronous infection with entomopathogenic fungi (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*) and bacteria *Pseudomonas* sp. *Contemporary Problems of Ecology*, 1(2), 210–213. <https://doi.org/10.1134/S1995425508020069>
- Lee 1960 ; Roberts. 1976 in Reed. 1992. L'évidence archéologique indique que le grain a été cultivé et stocké en vrac depuis 7000 ans.

- Lee R.E., Strong-Gunderson J.M. and Lee M.R.1992. Ice nucleating active bacteria decreases the cold hardiness of stored grain insects. J. Econ. Ent., 85 (2) 371-374.
- Lee, W. W., Shin, T. Y., Bae, S. M., & Woo, S. D. 2015. Screening and evaluation of entomopathogenic fungi against the green peach aphid, *Myzus persicae*, using multiple tools. Journal of Asia-Pacific Entomology, 18(3), 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2015.07.012>.
- Lepesme P. 1944. Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés, Ed. Encyclopédie Entomologique, Paris : 2-335.
- LEPIGER A.L.1966. La Desinsécaton des syocks de céréales Ed. Off•
- Lilian, R., Descamps, Carolina-Sánchez C. & Adriana, A. Ferrero, N.P.C. 2011. Activity of *Schinusareira*(Anacardiaceae) Essential Oils against the Grain Storage Pest *Triboliumcastaneum*. Naturel product communications vol.6 NO6 887-891,
- Lipa, J.J. 1975. White muscardines (*Beauveria* sp.). In an outline of insect pathology. Foreign Sei. Pub! Dept NCSTE!, Warsaw, Poland. 139- J42.
- Lord JC .2001.Desiccant dusts synergize the effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on stored-grain beetles.J Econ Entomol 94:367–372.
- Lord JC .2005.Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favour efficacy of *Beauveria bassiana*(Hyphomycetes:Moniliales)forthe lesser grain borer, *Rhyzoperthadominica* (Coleoptera: Bruchidae). Biol Control 34:180–186.
- Lydie suty. 2010. La lutte biologique vers les nouveaux équilibres écosystèmes p :76,edition : Quae).
- Maarouf A. 2021. Plantes natives d'Algérie. <https://algerianativeplants.net/>
- Madene N.2014.Activité biologique de trois extraits végétaux et d'un insecticide sur *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae. Projet de fin d'études en vue d'obtention du diplôme de Magister en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique EL-Harrach-Alger.
- Maffei M. 1988. Achemotype of *Mentha longifolia* (L.) Hudson particulary rich in Piperitenone Oxide. Flav.Frag. J., 3 : 23-26.
- Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R.2003. Phytochemical screening of some species of Iranien plants. Iranien Journal of Pharmaceutical Research. 77-82.
- Mascarin, G. M., & Jaronski, S. T. 2016.The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 32 (177), 1- 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>
- 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.
- Mebarkia A.2002.inventaire et estimation des degats causes par les insectes des stocks dans la region de Borj-Bou Arreridj .Bioecologie et effet des radiations ionisantes sur le potential biotique de

- Rhyzopetha dominica.(coleoptere :Bosrtrychidae).These de Magster option :production vegetale et agriculture de conservation.université de Farhat abbas Setif .
- Messaili B. 1995. Botanique, systématique des spermaphytes. OPU (Ed). Alger, 91p
- Ming, Q., Wang, A., and Cheng, C. 2014. Molecular identification of *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) using PCR-RFLP analysis. *Journal of genetics*.1-5.
- Mobarakeh,H.I.,Dehkordi,H.S., Dehkordi,M.j.2014.Assessing the eefect of the Savory(Satureja hortensis L.)Essence on some biochemical factors in rat's blood serum .Advances in life Sciences 4(2),73-8.
- Momar . 2011 .Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique, Biotechnol. Agron. Soc. Environ
- MondalS., Baksi S., Koris A., et Vatai G. 2016. Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering, 18(2), 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.psra.2016.10.001>
- Moore D, Higgins PM .1997. Viability of stored conidia of *Metarhizium flavoviride* Gams and Rozsypal, produced underdifferent culture regimes and stored with clays. Biocontrol Sci Technol 7:335–343
- Morales, R.2002. The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In : Thyme : the genus Thymus. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- Moreno L., Bello R., Primo-Yufer E., Esplugues J. 2002. Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. Phytotherapy Research, 16 : 10-13.
- Mosiniak, M. ; Prat, R. et Roland, J-C. 2001. Du blé Au pain. Copyright "Biologie et Multimédia", source Internet.
- Multon J.L., et David E. 1982 . Conservation et stockage des grains, graines et produits dérivés des céréales, oléagineux et protéagineux, aliments pour animaux, Ed. Techniques et documentation, Lavoisier, Paris, vol.1, p. 576.
- Multon. J.L.1982. Conservation et stockage des grains et produits dérivés : oléagineux, protéagineux, céréales et aliments pour animaux, Edit. Tech. Doc et Apria- Lavoisier. Vol II. 381 P.
- Naghibi F ., Mosaddegh M.,Motamed S-M ,Ghorbani A.2005.Labiatae family in folk medicine in Iran: from Ethno botany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2, 63-79.
- Naville M.2005. La biodiversité des espèces cultivées :Analyse dans le cas du blé,
- Ndomo A. F., Tapondjou A. L., Tendonkeng F., Tchouanguép F. M.2009. Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemonviminalis*(Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelidesobtectus*(Say) (Coleoptera; Bruchidae), *Tropicultura J.*, 27 (3): 137-143.
- Nerio L., Olivero-Verbel J. Et Stashenko E.2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais*Motschulsky(Coleoptera). J. Stored Prod. Res.,45 (3), PP 212-214.

- Ngamo L.S.T. et Hance T.H. 2007. Diversité des ravageurs, des denrées et méthodes alternatives de luttés en milieu tropical. *Tropicultura*, 25(4), pp 215-220.
- Nowaczyk, K., Obrepalska.,Stepłowska, A.; Gawlak, M.,Throne, J. E., Olejarski, P. and Nawrot, J. 2009. Molecular techniques for detection of *Tribolium confusum* infestations in stored products. *J. Econ. Entomol.* 102 (4): 1691–1695.
- Odeyemi, O.O., Masika, P., Afolayan, A.J., 2008. Insecticidal activities of essential oils and powders of some medicinal plants in biological control of the pea weevil
- Oloyede OI. 2005. Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nautr.* 4 : 379-381.
- Olson, D.A.W.N.M., Fadamiro, H., Lundgren, J.O. natha. G., Heimpel, G.E.2000. Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiol. Entomol.* 25, 17–26. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.2000.00155.x>
- Ominski, K.H., Marquardt, R.R., Sinha, R.N., and Abramson, D.1994.Ecological aspects of growth and mycotoxin production by storage fungi in: *Mycotoxins in Grain Compounds Other Than Aflatoxin* Miller, J.D., and Treuhohn, H.L., eds., Eagan Press, St. Paul, MN.
- Ortiz-Urquiza, A., Riveiro-Miranda, L., Santiago-Alvarez, C., & Quesada-Moraga, E. 2010. Insect-toxic secreted proteins and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 105(3), 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.07.003>.
- Pariante L.2001. Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2 ème Ed. Académie nationale de pharmacie. Paris 1643 p.
- Park J.H., Jeon Y.J., Lee C.H., Chung N., Lee H.S. 2017. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Sci. Rep.* 2017, 7, 40902. [[Google Scholar](#)]
- Paulin R.1988.Biologie des coléoptères, Ed. Le Chevalier, Paris, pp 710
- Pointel, J. G. 1980. Le pourcentage de perte en poids et la perte spécifique, critère d'évaluation des dégâts causés par les insectes dans les céréales et les légumineuses. *Arew.Zool.* 66, 185-198
- Prasanth, R, Ravi, V.K, Varsha, P.V, Satyam S. 2014. Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Med Aromat Plants.* 3 (4):1- 3.
- Prats, J. ; Clement-Grandcourt, M. 1971. *Les Cereales*. Baillière et Co. Collection d'enseignement agricole. Pages 15-314. Production. 2ème édition, ED. Lavoisier Tec & Doc., Londres, Paris, New York, 478 P.
- Pretty J, Hine R. 2005. Pesticide use and the environment in *The pesticide detox - Towards a More Sustainable Agriculture*. EARTHSCAN: London, Sterling, VA; 293 .
- Qin M., Li Z. H., Kocerovar Z., Cao Y. and Stejslal V. 2008 Rapid discrimination of the common species of the stored product pest *Liposcelis* (Psocoptera: Liposcelididae) from China and the Czech Republic, based on PCR-RFLP analysis. *Eur. J. Entomol.* 105, 713–717.
- Quezel P ., Santa S .1963. Nouvelle flore de gfiton du centre national de la recherche scientifique .paris ,788-789.

- Quezel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions limitrophes. Paris, 788-789.
- Rasekh HR, Nazari P, Kamli-Nejad, M, Hosseinzadeh, L. 2008. Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 116, 21-26.
- Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C. 2008. Biopesticides d'origine végétale. 2ème Ed, Lavoisier, 546p.
- Regnault-Roger C., Hamraoui A. 1994. Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*, 13 (8) : 624-628
- Regnault-Roger, C et Hamraoui, A. 1997. Lutte contre les insectes phytophages
- Rehner R.A. et Buckley E. 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-alpha sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 2005 b;97(1):84-98
- Righi A F. 2010. Etude de la relation plante- insecte chez les Bruchidées : Cas de la bruche du pois chiche *Callosobruchus chinensis* L. En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences. Université de Mustapha Stambouli, Mascara.
- Righi, K; A. Righi, Boubkeur. A & Boungab. K. 2017. Toxicity and repellency of three Algerian medicinal plants against pests of stored product: *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) Coleoptera: Bostrichidae). *Banat's Journal of Biotechnology*. 0.7904/2068-4738-IX(17)-50.
- Righi-Assia A.F., Khelil M.A., Medjdoub-Bensaad F., Righi K. 2010. Efficacy of oil powders of some medicinal plants in biological control of the pea weevil (*Callosobruchus chinensis* L.). *African Journal of Agricultural Research* Vol.5(12) : 1474- 1481.
- Rosine, C., Momo, D. 2009. Évaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'*Acalypha mahrhirtum* (melastomatacees). Université de Dschang – Master en biochimie clinique et pharmacologie
- Rouibi A., Saidi F., Boutoumi H. 2010. Identification par CG/MS et Détermination des Effet Antimicrobiens des Huiles Essentielles du Faux Poivrier (*Schinus molle* L). ISSN – 2277 – 1247.
- Ruffa M.J., Ferraro G., Wgner M.L. Calcagno M.L., Campos R.H., Cavallaro L. 2002. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. *J. Ethnopharmacol.*, 79 : 335-0339
- Ruffinengo, S., M. Eguaras, I. Floris, C. Faverin, P. Bailac, and M. Ponzi. 2005. LD50 and repellent effects of essential oils from Argentinean wild plant species on *Varroa destructor*. *J. Econ. Entomol.* 98:651-655
- Rugman-Jones P. F., Hoddle M. S., Mound L. A. and Stouthamer R. 2006 Molecular identification key for pest species of Scirtothrips (Thysanoptera: Thripidae). *J. Econ. Entomol.* 99, 1813– 1819.
- Sabbahi, R. 2008. Utilisation du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* dans une stratégie de gestion phytosanitaire des principaux insectes ravageurs en fraiseriaies. Thèse de doctorat (Ph. D.). Institut nationale de la recherche scientifique, Université du Québec. 181 p

- Sahand K. Khidr ., Waran Nooraldeen. A. Agha., and Adil H. Amin .2017 .Molecular Identification Of Three Stored Product Insect Species On Dried Fruits And Their Control With The Use Of Some Aqueous Plant extracts. Science Journal of University of Zakho 5(2), 178-186, June-2017 181
- Samson R.A., Evans H.C et Latge. 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-verlag. Berlin , heidelberg. New York 1-187.
- Sanon A., Garba M., Auger J., et al. 2003. Analyse de l'activité insecticide du methylisothiocyanate sur *Callosobruchus maculatus* (F.) (coleoptera : bruchidae) et son parasitoïde *Dinarmus basalis* (rondani) (hymenoptera : pteromalidae). Bénin : Bibliothèque Nationale du Bénin, 5 (2), 129-138p.
- Saranraj, P., et Jayaparakash, A. 2017. Agro beneficial entomopathogenic fungi– *Beauveria bassiana* : a review. Asian Journal of Multidisciplinary Research (IAJMR), 3(2), 1051–1087. <https://doi.org/10.22192/iajmr.2017.3.2.4>.
- Savidou S, Goulisa J, Giavazisa I, Patsiaourab K, hytioglouc p, Arvanitakis C. 2007. Herb induced hepatitis by *Teucrium polium L.*: report of two cases and review of the literature. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 19:507-511
- Sawicki RM., Farnham AW. 1968. Examination of the isolated autosomes of the SKA strain of houseflies for resistance to several insecticides with and without pretreatment with sesamex and TBTP. Bull. Entomol. Res. 59, p. 409.
- Scotti, G.1978. Les insectes et les acariens des céréales stockées. Normes et Technique. Institut technique des céréales et des fourrages. Association française de Normalisation AFNOR.
- Seladiji M.2014. Etude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles.
- Shahein A. 1991. Susceptibility of some stored product insects to high and two temperatures.
- ShahrakI MR, Arab MR, Mirimokaddam, E, Palan MJ.2007. The effect of *Teucrium polium* (Calpoureh) on liver function, serum lipids and glucose in diabetic male rats. Iranian Biomedical Journal. 11(1): 65-68
- Sharma AK, Jana AM, Srivastav A, Gupta M, Sharma S, Gill SS.2014. Antimicrobial properties of some edible mushrooms: a review. World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2014;3(5):1009—1023.
- Sharma O. P. and Bhat T. K. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* 113: 1202-1205.
- Sheeba, G., Seshadri, S., Raja, N., Janarthanan, S., & Ignacimutu, S. 2001. Efficacy of *Beauveria bassiana* for control of the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Applied Entomology Zoology, 36(1), 117-120.
- Shepard H.H.1940. Insects Infesting Stored Foods, University Of Minnesota Agricultural Experiment Station. Reprinted. Bulletin, 341 :42
- Shyamala, M.P., Venukumar, M.R. and Latha, M.S. 2003. Antioxidant potential of the *Syzygium aromaticum* (Gaertn.) Linn. (Cloves) in rats fed with high fat diet. Indian Journal of Pharmacology, 35, 99-103.

- Sidali L., Brada M., Fauconnier M.L., Lognay G. 2014. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. *PhytoChem & Biosub Journal*, 8(3):10-163.
- Sigaut F. 1978. Les réserves des grains à long terme. Technique de conservation et fabrication sociales dans l'histoire. Ed. Maison de science de l'homme. Univ.de Till III..PP 3-43.
- Sinha R.N et Watters F.L. 1985. Insectes nuisibles des minoteries, des silos-élévateurs, des usines à provendes et méthodes de désinfection. Ed. Agriculture Canada. 311p.
- Sinha S.R. et Saxena J.D.2000. Evaluation of different bioassay techniques for the measurement of deltamethrin resistance in *Tribolium castaneum*. *Indian J. Ent.* 62(4): 341-345.
- Slavkovska, V., Jancic, R., Bojovic, S., Milosavljevic, S.,and Djokovic, D.2001. Variability of essential oils of *Satureja Montana* L. and *Satureja kitaibelii* wierzb. Ex Heuff. From the central part of the Balkan Peninsula. *Phytochemistry*, 57(1), 71-76.
- Smith EH, Whitman R.C.1992. Field Guide to Structural Pests. National Pest Management Association, Dunn Loring, VA. NewYork, pp 59-62
- Somon A. 1987. Arbres, Arbustes Et Arbustaux En Algérie. O.P.U, Alger.
- Speck B., Ursula., FotschC. 2008. Connaissance des herbes sarriette. EGK Caisse de Santé.
- Starnes R.L., Liu C.L et Marone P.G. 1993. History, use and future of microbial insecticides. *Amer. Entomol.* 39:83-91
- Steffan J.R.1978. Description et biologie des insectes in Scotti G., 1978-Les insectes et les acariens des céréales stockées, Ed AFNOR et ITFC, Paris, pp. 1-62.
- Steffan J.R.1978. Description et biologie des insectes in Scotti G., 1978-Les insectes et les acariens des céréales stockées, Ed AFNOR et ITFC, Paris, pp. 1-62.
- Steinbauer et Martin J. 1995.The insecticidal and repellent activity of 'Schinusmolle' L. (Anacardiaceae) against *Drosophila melanogaster*Meigen (Diptera: Drosophilidae) and *Triboliumconfusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) [online]. *General and Applied Entomology: The Journal of the Entomological Society of New South Wales*, Vol. 26 [13]-18.
- Steinbauer et Martin J. 1995.The insecticidal and repellent activity of 'Schinusmolle' L. (Anacardiaceae) against *Drosophila melanogaster*Meigen (Diptera: Drosophilidae) and *Applied Entomology: The Journal of the Entomological Society of New South Wales*, Vol. 26
- Stone BF., Brown AWA. 1969. Mechanisms of resistance to fenthion in *Culex pipiens fatigans* Wied. *Bull. Organ. Mond. Santé* 40, p. 401-408.
- structuration génétique sur la durée du cycle de développement de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae).
- Szczepanik M., Zawitowska B., Szumny A. 2012. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser.
- Tamert A.2016. Labiées des monts de Tessala (Wilaya de Sidi Bel Abbès): Histologie et phytochimie

- Taylor, L. 2005. The healing power of rainforest herbs. a guide to understanding and using herbal medicinals. Ed. Square One Publishers. New York.
- Tazerouti-Bendiffallah L., Bakour K. et Kellouch AEK.2001.Etat sanitaire des denrées entreposées dans les unités de stockage de Draa Ben Khedda, Bouira et ain Bessam. Journées Scientifiques et Techniques Phytosanitaires, 12 et 13 Nov, MAP, INPV El- Harrach, 355-360.
- Todorova. S.I., Cloutier, C., Côté, Ie. Et Coderre, D. 2002a. Pathogenicity of six isolates of *Beauveria bassiana* (balsamo) vuillemin (Deuteromycotina, hyphomycetes) to *Perillus bioculatus* (Hem: Pentatomidae). L Appl. Ent. 126: 182-185.
- Torres R, Faini F, Modak B, Urbina F, Labbe´ C, Guerrero J (2006): Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry* 67: 984–987.
- Tzean, S. S., Hsieh, L. S., & Wu, W. J. 1997. Atlas of entomopathogenic fungi from Taiwan Council of Agriculture. Taiwan, ROC. p, 214.
- Vandenberg, J.D. 1990. Safety of Four Entomopathogens for Caged Adult Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Econ. Entomol.*, 83(3), 755-759
- Varban D.I., Duda M .,Varban R .,Munteau S.2009.research concerning the organic technology for *saturerja Hortensis L* . Culture .Bulletin UASVM Agriculture, 66(2),225-229
- Vassilakos TN, Athanassiou CG, Kavallieratos NG, Vayias BJ .2006.Influence of temperature on the insecticidal effect of *Beauveria bassiana* in combination with diatomaceous earth against *Rhyzoperthadominica* and *Sitophilus oryzae* on stored wheat.*Biol Control* 38:270–281
- Vey A., Fargues J. et Robert P. 1982. Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus. *Biochem. Physiol. C*, 136, 134-147.
- Villano,D.,Fernandez-Pachon, MS.,Moya, ML.,Troncoso, AM.,Garcia-Parilla,MC. 2007.Radical scavenging ability of phenolic compoundstowards DPPH free radical. *Talanta*,71.
- Walter CM., Price NR. 1989). The uptake and penetration of pirimiphos-methyl into susceptible and resistant strains of the rust red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Comp. Biochem. Physiol.* 94C :419-423.
- Wang C. L., Zhou X. G., Li S. J., Schwinghammer M., Scharf M., Buczkowski G. and Bennett G. 2009 .Survey and identification of termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in Indiana. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102, 1029–1036.
- Weiser J.1972. *Beauveria Vuill.* In: *Nemocihmyzu*. Naklad.Ceskoslov.Akademie, Praha, pp. 361-377.
- Wimalaratne, P., Slessor, K., Borden, J., Chong, L., Abate, T. 1996. Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinusmolle* L. *J. Chem. Ecol* 22, 49e59.
- Wimalaratne, P., Slessor, K., Borden, J., Chong, L., Abate, T. 1996. Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinusmolle* L. *J. Chem. Ecol* 22, 49e59.
- Worou, D., Zandjanakou, M., Tachin, M., Boulga, J. & Bokonon, A. 2016. Diversité des insectes et champignons du maïs, du voandzou, du niébé et de la lentille de terre en stocks dans les marchés du

Sud. Bulletin de la Recherche Agronomique du Benin (BRAB) - Numéro spécial : p 5-13
<https://fr.wikipedia.org/wiki/Macrotyloma> consulté le 18/03/20.

Yadav T.D. 1986. Efficacy of deltaméthrine against insect infestation in wheat stored under

Yahiyoui N.2005. Extraction, Analyse Et Évaluation De L'effet Insecticides des huiles essentielles de *Mentha spicata* L sur *Rhyzopertha dominica* (F.)(Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera,Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie,INA, El-Harrach, 95 p.

Young, A.M.1970.Predation and abundance in populations of flour beetles. *Ecology*, 51, 602-619.

Zal F, Vasei M, Rasti M, Vessal M. 2001. Hepatotoxicity associated with hypoglycemic effects of *Teucrium polium* in diabetic rats. *Arch Iranian Med* 4

Zegga S., Tirchi N. 2001. Activité biologique de quatre plantes sur la bruche du pois – chiche. *Callosobruchus maculatus*, 54p.

Zhang, T., Wang, Y. J., Guo, W., Luo, D., Wu, Y., Kučerová, Z., Stejskal, V., Opat, G., Cao, Y., Li, F. J., and Li, Z. H. 2016. DNA barcoding, species-specific PCR and real-time PCR techniques for the identification of six *Tribolium* pests of stored products. *Scientific Reports*. 6: 1-11.

Ziaee M., et Moharramipour S.2013. Effectiveness of medicinal plant powders on *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*, *J. Crop Prot.*,2 (1): 43-50.

Ziani, J. 2008. Application de *Beauveria bassiana* contre la punaise Terne *Lygus lineolaris* (Palisot De Beauvois) (Hémiptères: Miridés) dans Les Vignobles. Mémoire de maîtrise (M. Sc.), Université du Québec à Montréal. 101 p

Zimmermann, G. 2007. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, vol. 17, no. 6, p. 553-596.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

PUBLICATION INTERNATIONALES
COMMUNICATIONS INTERNATIONALES
COMMUNICATIONS NATIONALES
COMMUNICATIONS AFFICHEES

**Les ravageurs des denrées stockées : Importance
Economique et Développement d'une Approche
de Lutte Intégrée**

Publications internationales

1. Sekrane, F.Z.Y., Righi, K., Assia, F.R, Madani, Z., Karaca, I. (2022). Evaluation of the insecticidal potential of two medicinal plants and an entomopathogenic fungi against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae), a pest of stored foods. International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences, 6 (2), 204-209. Doi <https://doi.org/10.31015/jaefs.2022.2.1>
2. Sekrane Fatima Zohra Youssra, Righi Assia Fatiha, Righi Kada, Yahia Boukhari, İsmail KARACA. (2022). Insecticidal Activity of Medicinal Plant, *Schinus molle* (Anacardiaceae) on *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) Journal of the Faculty of Agriculture Volume 17, Issue 2, Page 104-109, 2022. Doi: [10.54975/isubuzfd.1153369](https://doi.org/10.54975/isubuzfd.1153369)

Communication internationals

1. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha et Righi K., 2018. Séminaire Contribution de l'étude Eco biologique de *Tribolium confusum* et évaluation du potentiel insecticide de quelques plantes médicinales: Premier colloque International sur la lutte biologique et la lutte Intégrée en Algérie. 4-6/02/2018. Université Mostefa Ben Boulaid Batna.
2. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha et Righi K., 2017. Lutte biologique contre *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionida) ravageur des denrées stockées par l'utilisation de quelques plantesmédicinales. The first international congress on biotechnologies for sustainable development CIBSDD Boumerdes 24-25 Octobre 2017.

Communications nationales

1. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha, et Righi K., 2018. Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles de quelques plantes médicinales a l'égard du ver rouge de la farine *Tribolium castaneum* Coleoptera : Tenebrionidae. VIII^{èmes} journées nationales des sciences de la nature et de la vie. 9-10 Mai 2018. Université HAMID BENBADIS Mostaganem.
2. Sekrane Fatima Zohra , Righi Assia Fatiha, et Righi K., 2018. L'évaluation de l'effet répulsif de trois huiles essentielles des plantes médicinales vis avis l'insecte des denrées stockées *Tribolium confusum*. Université Djillali Liabes Sidi Bel-ABBES
3. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha, et Righi K. 2020. Evaluation de l'effet insecticide de *Ruta graveolens* vis-à-vis l'insecte des céréales stockées (*Sitophilus oryzae* L.). 1ere Journée Nationale d'Entomologie et de Parasitologie. 11 Mars 2020. Mustapha Stambouli Mascara.

Communication affichées (Nationales et Internationales) :

1. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha, et Righi K.,. 2017. Effet bio insecticide de quelques plantes médicinales sut *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) ravageur des denrées stockées). Conférence scientifique internationale sur l'environnement et l'agriculture organisée du 24 au 25 Avril 2017. A Hammamet Tunisie (communication poster intitulée).
2. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha, et Righi K., 2020. Criblage phytochimique et activité antioxydante de *Mentha rotundifolia*. 1ere journée nationale d'entomologie et de parasitologie: 1ere Journée Nationale d'Entomologie et de Parasitologie. 11 Mars 2020. Mustapha Stambouli Mascara
3. Sekrane Fatima Zohra, Righi Assia Fatiha, et Righi K., 2020. Contribution à l'étude éco biologique de *Sitophilus oryzae* et l'évaluation du potentiel insecticide et antioxydant des plantes médicinales. Conférence nationale sur l'environnement et le développement durable CNEDDA, 22 et 23 jan 2020:

Evaluation of the insecticidal potential of two medicinal plants and an entomopathogenic fungi against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae), a pest of stored foods

Fatima Zohra Youssra Sekrane^{1,*} 

Kada Righi¹ 

Fatiha Righi Assia¹ 

Zohra Madani¹ 

İsmail Karaca² 

¹University of Mascara, Department of Agronomy, Research on Biological Systems and Geomatics Laboratory (LRSBG), Algeria

²Isparta University of Applied Sciences, Agricultural Faculty, Plant Protection Department, Isparta, Türkiye

*Corresponding Author: youssra.sekrane@univ-mascara.dz

Citation

Sekrane, F.Z.Y., Righi, K., Assia, F.R., Madani, Z., Karaca, I. (2022). Evaluation of the insecticidal potential of two medicinal plants and an entomopathogenic fungi against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae), a pest of stored foods. International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences, 6 (2), 204-209.
Doi <https://doi.org/10.31015/jaeefs.2022.2.1>

Received: 02 February 2022

Accepted: 29 April 2022

Published Online: 09 May 2022

Revised: 10 April 2022

Year: 2022

Volume: 6

Issue: 2 (June)

Pages: 204-209



This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC) license
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Copyright © 2022

International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences; Edit Publishing, Diyarbakır, Türkiye.

Available online

<http://www.jaeefs.com>

<https://dergipark.org.tr/jaeefs>

Abstract

Stored products are among the most important foods in human nutrition. However; these products are under the pressure of many harmful organisms.

One of these pests is *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae). In this study, effects of two essential oils (*Mentha rotundifolia* and *Satureja calamintha*) and an entomopathogenic fungi on *Tribolium confusum* has been tried under the laboratory conditions, contact and repellent effects of essential oils and contact effect of dry plant extract were determined.

As a result, essential oil, 3, 5, 10, 15 and 20 µl / ml doses of *Mentha rotundifolia* showed 100% effect after 24 hours, while *Satureja calamintha* reached 100% effect after 96 hours.

15 µl / ml dose of *M. rotundifolia* and 20 µl / ml dose of *S. calamintha* reached 100% detrimental effect after two hours. Powder doses of 0.6, 0.8 and 1.0 g of these plants, which were applied, caused the death of all the male and female individuals after 24 hours. In addition, the effects of 1×10^7 conidia / mL dose of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* after 24, 48 and 72 hours were 87.5%, 97.5% and 100%, respectively. It was seen that both essential oils and *B. bassiana* were successfully in suppressing the depot pest *Tribolium confusum*.

Keywords

Beauveria bassiana, Cereals, Essential oils, *Mentha rotundifolia*, Repellent, *Satureja calamintha*

Introduction

Pests are a serious problem in grain during storage and its derived industry (Pérez et al., 2004).

Even if the problem is a global, it is more important in developing countries and in those of Africa in particular because of the climatic conditions favourable to their development (Stored food could be attacked by insects, fungi and rodents. Insect damage is the most important. Even if the problem arises in such a way overall, it is more important in developing countries. Development and in those of Africa in particular because of the climatic conditions favorable to their development

(Ndomo et al., 2009). Confused flour beetle "*Tribolium confusum*" is one of the most important species on grain stocks. It is found all over the world. The protection of cereals against these stock pests is of great importance for human survival. There are many obstacles to the timing of chemical use, including: increasing resistance in these pests and economic problems.

Following the increasing attention of the national and international scientific community on the risks related to the use of chemical pesticides, it is therefore important to seek new alternative control strategies to overcome this scourge. Hence the urgent need to search

for natural insecticides which, while being equally active, volatile and available. These products have a bio-insecticidal activity and, above all, are not toxic for human. Which has been the subject of various studies (Righi et al., 2017; Kemassi et al., 2019; Benayad et al., 2012).

It is with the aim of making our contribution to this aspect of research concerning the protection of foodstuffs stored by natural means as an alternative to chemicals against this dreadful pest, that we have attempted to test new bioinsecticide molecules through the choice of two medicinal plants and the use of an entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*.

Materials and Methods

Insects and substrate

The strain of *Tribolium confusum* used originates from Mascara (Algeria) and its molecular identification was confirmed in a molecular entomology laboratory in Turkey. Several generations were obtained from mass rearing techniques which were carried out in glass jars filled with wheat flour. The whole is placed in an oven at a temperature of 28°C and a relative humidity of 70%.

Plant materials

The two plants (*Mentha rotundifolia* and *Satureja calamintha*) belonging to Lamiaceae family were harvested in March 2019 from Mascara region (West of Algeria). They are identified by Dr. Righi, a botanist in the Department of Agronomic Sciences of the University of Mascara. The aerial parts (stems, leaves and flowers) of each plant were dried and kept away from light and humidity. Part of the plant material of each of the two species is coarsely finely ground in an electric mill while the other part is used for the extraction of essential oils.

Extraction of essential oils

Essential oils were obtained by the hydro-distillation process using a Clevenger extraction device. The yield was 1.86% for *Mentha rotundifolia* and 1.77% for *Satureja calamintha*.

Bioassays

All bioassays were performed in the Entomology Laboratory of the University of Mascara under controlled conditions (28 °C, 70% RH).

Contact toxicity of essential oils

0.4g mass of flour substrate are put in petri dishes treated with *Mentha rotundifolia* and *Satureja calamintha* separately at different doses (5,10,15 and 20µL/ml) of acetone solution of essential oil and 3µL/ml only for *Mentha rotundifolia*. A batch of 10 adults male and female individuals is introduced into each petri dish. Five replicates were carried out for each dose and each plant. Mortalities in the treated plates (Mo) were expressed according to Abbott's (1925) formula of corrected mortality (Mc) taking into account the natural mortality observed in the control plates (Mt): $Mo - Mt / 100 - Mt \times 100$.

Repellent effect of essential oils

The repellent effect of the essential oil towards adults of *Tribolium confusum* was evaluated using the preferential area on filter paper method described by McDonald et al., (1975). For example, the 5cm diameter filter paper discs used for this purpose were cut into two equal parts, each with a surface area. Four doses of acetone solution of essential oil of *Satureja calamintha*

and *Mentha rotundifolia* (5, 10 15 and 20 µl/ml) and 3µL/ml for *Mentha rotundifolia* were used for this test. Each of these doses was spread evenly over one half of the disc; the other half received only 1ml of acetone. A batch of 10 adult insects, no more than 2 days old, was placed in the center of each disc. Four replicates were made for each dose and each plant. After two hours, the number of insects present on the part of the filter paper treated with essential oil (Nt) and the number present on the untreated part (Nc) were recorded. The percentage repellency (PR) was calculated using the following formula:

$$PR\% = Nc - Nt \times 100$$

The average percentage of repellency for the essential oil was calculated and assigned according to the classification of McDonald et al. to one of the different repellent classes ranging from 0 to V:

Class 0 (PR < 0.1%). Class III (PR = 40.1 - 60%).

Class I (PR = 0.1 - 20%). Class IV (PR = 60.1 - 80%).

Class II (PR = 20.1 - 40%). Class V (PR = 80.1 - 100%).

Contact toxicity of test plant powders

10 adult male and 10 females *Tribolium confusum* individuals were introduced in petri dishes each containing 0.4 g of flour mixed with the powder of each plant studied. Three doses (0.6, 0.8 and 1 g) are tested, the experiments were repeated four times for each dose and each plant in the presence of a control.

Fungi and inoculum's preparation

Fungal strains of *Beauveria bassiana* isolated from soils in Isparta Province, Turkey in 2014 were obtained from Plant Protection Department, Agricultural Faculty, Isparta University of Applied Sciences, Turkey. The culture was maintained on a Sabouraud Dextrose Agar (SDA) slant at 4 °C. After were scraped with 10 ml of sterile water that contained 0.05% Tween 80. The spore suspension was adjusted to the desired concentration (10^7 conidia/ml) and counting with Malassez cell.

Application of entomopathogen fungi on insect

The 1×10^7 conidia/mL of the final concentration conidial suspension of isolate were sprayed two times from 30 cm distance with hand sprayers on the insects placed in the petri plates. Each assay consisted of 4 replicates with 10 insects. Control adult were treated with sterile distilled water with a 0.3% Tween-80. Petri dishes were kept at room temperature of 25 °C. The mortality rates of insects were evaluated on 1st, 2nd, and 4th day after inoculation. Tukey test was applied after one-way ANOVA.

Results

Contact toxicity of essential oils

The variation in the cumulative mortality rate of *T. Confusum* adults as a function of exposure time to essential oils extracted from two plants (*M. rotundifolia* and *Satureja calamintha*) was shown in Figure 1 and 2. Mortality rate in all doses of *M. rotundifolia* reached 100% less than 24 hours (Figure 1). According to figure 2, we noticed that the mortality rate of *S. calamintha* was 88% at the dose of 5 µl on the insects during the first 24 hours. After three days the mortality rate reaches 100%. The analysis of variance reveals a significant effect with F Cal = 3.49 and F Theo = 3.15.

Contact toxicity of test plant powders

All tested doses (0.6g, 0.8g and 1g) powdered of *M. rotundifolia* and *S. calamintha* killed all males and females of insects within the first 24 hours.

Repellent effect of essential oils

The results of the calculation of the percentage repellent of the two plants on the adults of *Tribolium confusum* by the method of Mc Donald et al., (1975) were shown in Table 1. After an exposure time of two hours, the results showed that the oil of *M. rotundifolia* is very repellent with a percentage of 96.3% compared to that of *S. calamintha* (90.37%) at the low dose of 3µl.

Effect of *Beauveria bassiana* on adults of *Tribolium confusum*

After the first few days of application, we observed the whitish mycelium of *Beauveria bassiana* curling over the entire surface of the adults of *Tribolium confusum*

According to time, an increase in mortality rates of adult *T. confusum* was observed (Table 2, Figure 3). The results reported in Figure 3 showed that *B. bassiana* caused with a mortality rate of 100% contrary to the control. No mortality was observed during the whole four-day exposure period.

Beauveria bassiana was very effective on the pest (Table 2). Numbers of dead insects in the 24th hour after treatment were 8.75 and it was different from control statistically. In the 48th hour, dead insect numbers were 9.75 and then all insects at 72nd hour were dead. Results of 98th and 72nd hours were different from other times statistically.

Discussion

The yields obtained are higher, whatever the species considered (*Mentha rotundifolia* 1.86% and *Satureja calamintha* 1.77%), than the values obtained in the literature (Lebyoud et al., 2015; Ech-Chahad et al., 2013; Bardeau, 2009; Righi et al., 2017; Bounihi, 2016).

These results can be explained by the fact that the values were calculated on the basis of the dry weight of the samples. Environmental, climatic and geographical conditions, the harvest period and the distillation technique influence the yield of essential oil (Lahlou, 2004).

According to Kemassi et al. (2019), mortality is the first criterion for judging the effectiveness of a chemical or biological treatment.

It was reported that the Lamiaceae family is the most effective family on the pests (Regnault-Roger & Hamraoui, 1993). In the present study, the two essential oils (*M. rotundifolia* and *S. calamintha*) demonstrated insecticidal activity on adults of *T. confusum* by contact with.

This is in line with the confirmations of several studies (Benayadet et al., 2012; Righi et al., 2010; Butnariu et al., 2012; Righi et al., 2016).

According to Kim et al., (2003), the toxic effects of essential oils depend on the pest, plant material tested and the duration of exposure.

Tests carried out by Yahyaoui (2005), on the effectiveness by inhalation and contact of spearmint essential oils on *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium confusum* showed that at a dose of 3.12% the essential oil acts practically in the same way on the two insects with 100% mortality. These results corroborate with

those of (Benayad et al., 2012) in Morocco or *Mentha rotundifolia* was found to be too toxic with a mortality rate of 85% in the first day of exposure for 100% in the second day at the dose of 3µL.

At the low dose of 3µL/ml *Mentha rotundifolia* oil causes 100% mortality after 24 hours of exposure which corresponds to work of Righi et al., (2017), revealed that: the essential oil of *M. rotundifolia* is more effective on *R. dominica* with a mortality rate of 100% at a dose of 3 µL (highly significant effect with F Cal = 3.49 and F Théo = 0.74).

The oils of seven plants belonging to the Lamiaceae family were more toxic causing a 100% mortality after 1-4 days of exposure, and at low dose 10⁻² µL/cm³ on the *A. obtectusbruche* (Regnault-Roger & Hamroui, 1994).

Similarly, the repellency increases with dose and exposure time.

Ndomo et al., (2009), reported that after 2 hours of exposure, *Callistemon viminalis* leaf oils caused a level of repulsion ranging from 36.6 to 80% against adult *A. obtectus* (Coleoptera: Brachidae), clearly showing that the percentage of repulsion increases with dose.

Other previous studies have also shown that repellency can be used as a control method. For instance, Righi et al., 2016 demonstrated repellent properties of *Mentha rotundifolia*, *Satureja calamintha* and *Schinus moll* essential oils against *R. dominica*. In addition 100% repellency of *M. longifolia* (L.) Huds essential oil was observed against *Sitophilus zeamais* (Odeyemi et al., 2008). While our own results show that *M. rotundifolia* oil with (PR= 96,3% at 3µL/ml and *S. calamintha* with PR=90,37% at 5µL/ml) are very repellent.

Powders from the leaves of aromatic plants have a toxic effect on insects as they can act as a physical barrier Enobakhare (2007).

The Lamiceae family plants have been considered among the most traditionally used species against bruchids and other stored food beetles.

Our results (consistent with the work of other researchers who have demonstrated the insecticidal effect of certain plant extracts in the form of powders against pests of stored seeds (Righi, 2016; Barbat, et al., 2013).

The results of present study indicate that *Beauveria bassiana* can be used successfully against *Tribolium confusum*.

This is consistent with the work of other researchers who have found that *Beauveria bassiana* is a well-known entomopathogen fungi with a broad host range and is regarded as a safe biopesticide and has shown good results against many stored-grain insect species (Lord, 2005; Akbar et al., 2004; Athanassiou & Steenberg 2007, Ak et al., 2019; Sultan et al., 2019).

Akbar et al. (2004), in their research demonstrated that adults of *T. castaneum* exhibited very little susceptibility to *B. bassiana*.

Sheeba et al. (2001), applied *B. bassiana* against *S. oryzae* and recorded (86.2%) the mortality rate in adults after day. This results were also in line with Kassay et al. (2011) who tested 11 isolates of *B. bassiana* against adults of *S. zeamais* and *Prostephanus truncatus* (larger grain borer) (Coleoptera: Bostrychidae), and as a result, determined that *P. truncatus* was more susceptible to the *B. bassiana* than *S. zeamais*.

It was noted by Khashaveh et al. (2011), that the commercial product of *Beauveria bassiana* showed an interesting insecticidal effect against *S. granarius*,

Oryzaephilus surinamensis, *Tribolium castaneum* with a mortality rate of 88.33, 78.31, and 64.99%.

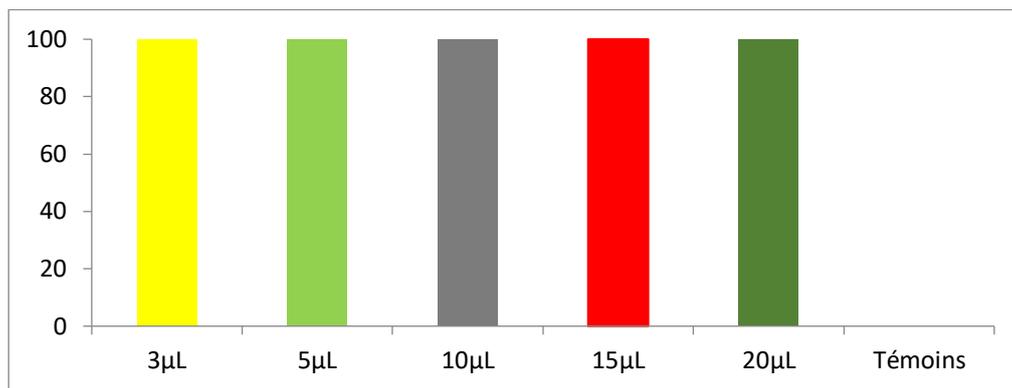


Figure 1. Bio-insecticidal contact effect of *Mentha rotundifolia* against *Tribolium confusum* after 24hours

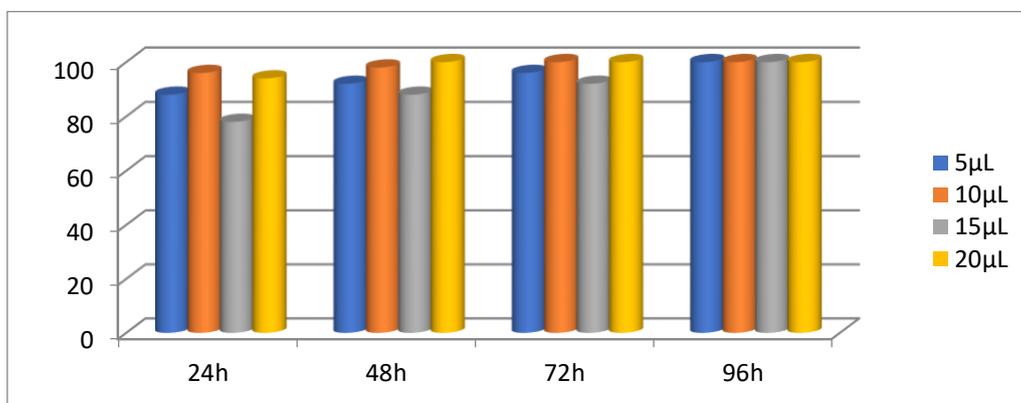


Figure 2. Bio-insecticidal contact effect of *Satureja calamintha* against *Tribolium confusum*

Table 1. Repellent effect of essential oils

Essential oils	3µL	5µL	10µL	15µL	20µL	PR %
<i>S. calamintha</i>	-	76,5%	89%	96%	100%	90 ,37%
<i>M. rotundifolia</i>	88,5%	95%	98%	100%	100%	96 ,3%

Table 2. Dead insect numbers according to time (Mean ±SE)

Time	Dead insect
98h	10.00±0.00* a
72h	10.00±0.00 a
48h	9.75±0.25 ab
24h	8.75±0.47 b
Control	0.00±0.00 c

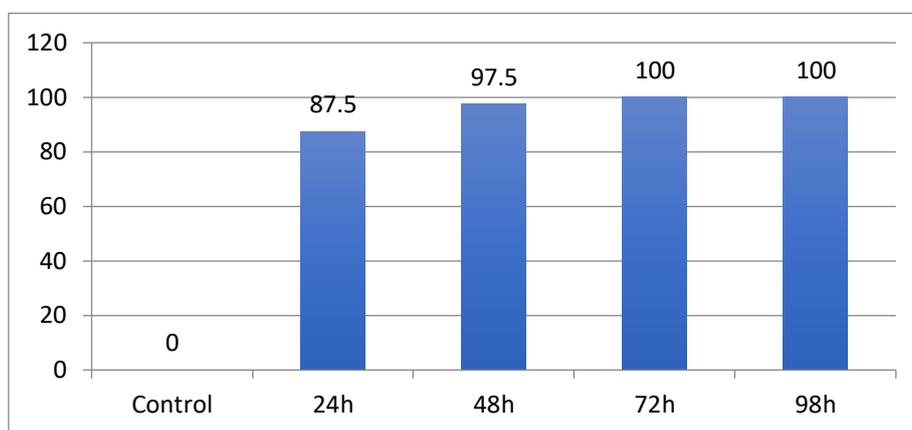


Figure 3. Mortality rates of *Tribolium confusum* treated by *Beauveria bassiana*

Conclusion

This study suggests that *Mentha rotundifolia* and *Satureja calamintha* medicinal plants as well as the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* revealed that they contain active compounds with a remarkable insecticidal effect may therefore constitute an alternative to chemical control and may be potential protectors against *T. confusum*. and Thus, the study results have given the signals that they can be used against other storage pests too.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interest

The authors declared that for this research article, they have no actual, potential or perceived conflict of interest.

Author contribution

The contribution of the authors to the present study is equal.

All the authors read and approved the final manuscript. All the authors verify that the Text, Figures, and Tables are original and that they have not been published before.

Ethical approval

Ethics committee approval is not required.

Funding

No financial support was received for this study.

Data availability

Not applicable.

Consent for publication

Not applicable.

Acknowledgements

The authors thanks to employees of the Plant Protection Department of Isparta University of Applied Sciences, Turkey for their material and facility support.

References

- Ech-Chahad, A., Farah, H., Bouyazza, L. (2013). Composition chimique d'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.). Scheele du Maroc Afrique Science, 9(3), 77-81. <http://www.afriquescience.info/document.php?id=2937>. ISSN 1813-548X.
- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, (18): 265-267.
- Ak, K. (2019). Efficacy of entomopathogenic fungi against the stored-grain pests, *Sitophilus granarius* L. and *S. oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(12), 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0115-y>
- Akbar, W., Lord, J.C., Nechols, J.R., Howard, R.W. (2004). Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *Journal of Economic Entomology*, 97:273–280.
- Athanassiou, C.G., Steenberg, T. (2007). Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control*, 40, 411–416.
- Barbat, C., Rodino, S., Petrache, P., Butu, M., Butnariu, M. (2013). Microencapsulation of the allelochemical compounds and study of their release from different. *Digest journal of Nanomaterials and Biostructures*, 8(3), 945–953. <https://web.s.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=c5fc590d-1a2c-4d68-9334-92f62b65050e%40redis>
- Butnariu, M. (2012). An analysis of *Sorghum halepense*'s behavior in presence of tropane alkaloids from *Datura stramonium* extracts, *Chemistry Central Journal*, 6(75), 2-7. <http://journal.chemistrycentral.com/content/6/1/75>

- Huignard, J., Glitho, I., Monge, J., Regnault-Roger, I. (2011). Insectes Ravageurs Des Graines De Légumineuses, Biologie Des Bruchinae Et Lutte Raisonnée En Afrique. Edition Quae France. 147p.
- deGroot, I. (2004). Protection des céréales et des légumineuses stockées. Ed. Fondation Agromisa. Wageningen. 74 p.
- Kassaye, A. (2011). Susceptibility of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) to native Entomopathogenic fungal isolates. A thesis submitted to the School of Graduate Studies of Addis Ababa University. Addis Ababa University School of Graduate Studies Department of Biology. 51 p.
- Kemassi, A. (2019). Effet insecticide des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (euphorbiaceae) recoltée dans oued sebseb (saharaalgerien) sur le *Tribolium castaneum*. Lebanese Science Journal, 20(1), 55-70 .
- Khashaveh, A., Ghosta, Y., Safaralizadeh, M.H., Ziaee M. (2011). The Use of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in Assays with Storage Grain Beetles. Journal of Agricultural Science and Technology, 13, 35-43.
- Kim, S., Roh, J.Y., Kim, D.H., Lee, H.S., Ahn Y.J. (2003). Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. J Stored Prod Res. 39(3), 293–303.
- Labiod, R.; Aouadi, S.; Bouhaddouda, N. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Satureja Calamintha nepeta* against phytopathogens fungi. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 7(7), 208–211.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research 18, 435-448.
- Lord, J.C. (2005). Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favour efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) for the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bruchidae). Biological Control, 34, 180–186.
- McDonald, 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 Res. Rep n° 882. Washington: Agric. Res. Service, US Dept of Agric., 1970; 183 p.
- Odeyemi, O.O., Masika, P.A., Folayan, A.J. (2008). Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). Afr. Entomol. 16, 220–225.
- Pérez-Mendoza, J., Flinn, P. W., Campbell, J. F., Hagstrum, D. W., Throne, J. E. (2004). Detection of stored –grain insect infestation in wheat transported in railroad hopper-cars. J.Econ. Entomol. 97, 1474-1483.
- Regnault-Roger, C., Hamraoui, A. (1994). Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidneybean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. Crop Protection, 13(8), 624-628.
- Righi-Assia, F., Kkelil, M.A., Medjdoub-Bensaad, F., Righi, K. (2010). Efficacy of oil and powder of some medical plants in biological control of the pea weevil (*Callosobruchus chinensis* L.). African Journal of Agricultural Research. 12, 1474–1481.
- Righi, K., Righi, A., Boubkeur A., Boungab, K. (2018). Toxicity and repellency of three Algerian medicinal plants against pests of stored product: *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). Banat's Journal of Biotechnology. 9(17), 50-59. DOI:0.7904/2068–4738–IX(17)–50.
- Sheeba, G., Sundaram, S., Nagappan, R., Sundaram, J., Savarimuthu, I. (2001). Efficacy of *Beauveria bassiana* for control of the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Appl. Entomol. Zool. 36 (1), 117–120.
- Stephou, V.K., Tjamos, S.E., Paplomatas, E.J., Athanassiou, C.G. (2012). Transformation and Attachment of *Beauveria bassiana* Conidia on The Cuticle of *Tribolium confusum* and *Sitophilus oryzae* in conjunction with Diatomaceous Earth. Journal Pest Science, 85, 387-394.
- Akkoç, S., Karaca, İ., Karaca, G. (2019). Effects of Some Entomopathogen Fungi on *Apis mellifera* L. and *Bombus terrestris* L. Journal of Natural and Applied Sciences, 23(2), 157-163.
- Sugandin, R., Awaknavar, J.S. (2014). The Pathogenicity of Entomopathogenic Fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against Three Major Storage Grain Beetles. Journal of Experimental Zoology, 17 (2), 775-780.
- Vandenberg, J.D. (1990). Safety of Four Entomopathogens for Caged Adult Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). Econ. Entomol., 83(3), 755-759.
- Yahyaoui, N. (2005). Extraction, Analyse et Evaluation de l'effet Insecticide Des huiles essentielles de *Mentha spicata* L. sur *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach, 95 p.

Insecticidal Activity of Medicinal Plant, *Schinus molle* (Anacardiaceae) on *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Sekrane FATİMA ZOHRA YOUSRA¹, Righi Assia FATİHA¹, Righi KADA¹, Yahia BOUKHARI¹, İsmail KARACA*²

Ziraat Fakültesi Dergisi,
Cilt 17, Sayı 2,
Sayfa 104-109, 2022

Journal of the Faculty of Agriculture
Volume 17, Issue 2,
Page 104-109, 2022

Abstract: The insecticidal and repellent properties of essential oil and powder forms of *Schinus molle* were evaluated on *Tribolium confusum* in laboratory conditions. As a result of the studies, it was revealed that the average lifespan of *T. confusum* was 30±2 days. Egg incubation period was 10 days while the fecundity was 78 eggs/female. Sex ratio was observed as 1.06 female/male. In vitro insecticidal tests showed that the essential oil of *S. molle* was more effective with a mortality rate of 100% in 24 hours. The adults (males and females) of *T. confusum* survived for less than 24 hours in powder of *S. molle*. The repellence test of the essential oil provided variable levels of protection ranging from 78% to 100%.

Keywords: Essential oil, life cycle, mortality, powder, repellence, stored food

Tıbbi Aromatik Bitki, *Schinus molle* (Anacardiaceae)'nin *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) Üzerindeki Böcek Öldürücü Etkisi

Öz: *Schinus molle*'nin uçucu yağ ve toz formlarının böcek öldürücü ve kaçırcı özellikleri *Tribolium confusum* üzerinde laboratuvar koşullarında denenmiştir. Çalışmalar sonucunda, *T. confusum*'un yaşam süresinin 30±2 gün sürdüğü saptanmıştır. Doğurganlık oranı dişi başına 78 yumurta olurken, yumurta açılma süresi 10 gün olarak belirlenmiştir. Eşey oranı 1.06 dişi/erkek olmuştur. Laboratuvar çalışmalarında *S. mole* uçucu yağının zararlı üzerindeki ölüm oranı 24 saat içinde %100'e ulaşmıştır. *S. mole*'nin toz olarak uygulandığı denemelerde *T. confusum*'un ergin erkek ve dişileri 24 saatten daha kısa süre yaşayabilmiştir. Uçucu yağın uzaklaştırıcı etkisi %78 ile %100 arasında değişmiştir.

Anahtar Kelimeler: Uçucu yağ, biyoloji, ölüm oranı, toz, uzaklaştırıcı etki, depolanmış ürünler

*Sorumlu yazar (Corresponding author)
ismailkaraca@isparta.edu.tr

Alınış (Received): 04/08/2022
Kabul (Accepted): 25/08/2022

¹University of Mascara, Department of
Agronomy, Research on Biological
Systems and Geomatics Laboratory
(LRSBG), Algeria.

²Isparta University of Applied Sciences,
Agricultural Faculty, Plant Protection
Department, Isparta, Türkiye

1. Introduction

Food security consist of an exact situation when all people at all time fairly access sufficient, safe and nutritious food that meets their dietary needs and preferences (FAO, 2006). In other words, food security is an expanded objective that refers to developing agriculture sector, as a food source, in such a way that people are satisfied in terms of quantity and quality food. So far, it became a global challenge to meet but it is much more special to African continent and there isn't a definite exception of Algeria. Its concerns are on both qualitative and quantitative importance of products in demand. A serious

bottleneck arises at the level of food storage where storage pests damage give rise to significant quantitative and qualitative losses. Indeed, many pests (rodents, insects, viruses, bacteria, fungi) are the cause of losses.

In order to effectively control storage pests, it is essential to inhibit their development through well-defining bioecological conditions. The confused flour worm, *T. confusum*, is one of the most important storage pests on grains and is a worldwide threat. *T. confusum* is morphologically and biologically similar to the other species named *Tribolium castaneum* (Delobel and Tran, 1993). In addition, their behaviours are so close to the

level that it is so probable that any common scientific work may report similar results (Mason, 2018; Goodnight and Craig, 1996). Confused flour beetle, *T. confusum* was named so due to the confusion on its specific identity; whereas for red flour beetle, *T. castaneum* is because of its red rust colour. However, they are distinguished with their antennae and thorax shapes (Mason, 2018).

Wherever *T. confusum* infests, its damage is not negligible. The use of chemical insecticides is currently the most practiced technique to fight against insect pests. The use of chemical products of plant origin appears as the best alternative to chemical pest control method as a safer control against these pests (Abbassi et al., 2005).

The object of our study is to seek the insecticidal potential of *S. molle* harvested in the region of Mascara in Algeria.

2. Materials and Methods

2.1. Insects rearing

2.1.1. *Tribolium confusum*

In order to obtain a homogeneous and sufficient population of insects, their mass rearing was carried out by collecting adults of *T. confusum* insects from a stock of soft wheat of a farmer in the Mascara region of Algeria. Its genetic identification at species level was confirmed in Molecular Entomology Laboratory (Ankara University, Agricultural Faculty, Plant Protection Department, Turkey). The rearing was carried out within glass jars (12 cm in length and 6 cm in diameter) each jar containing 250 g of flour and 5% of baker's yeast. The productions were carried out in the climate chambers of 25 °C temperature and 60% humidity.

2.1.2. Life cycle follow up

In order to observe the developmental stages of the confused flour worm, *T. confusum*, 1 g of flour was mixed with yeast as a food in Petri dishes of 9 cm diameter. A number of 60 pairs of insects were placed in each Petri dish and experiments were conducted in 10 replications. This development cycle took place in a climatic chamber set at the optimal conditions of 28 °C and 70% of Relative Humidity. Insects were controlled daily and observations were continued until the last adult died.

2.2. Harvesting and preparation of plant material

An aromatic plant *S. molle* belonging to the family Anacardiaceae, harvested in March 2020 in the region of Mascara was selected for this study. The plant was dried ten days. A part of collected plant materials was used for the extraction of essential oil, which was carried out on Clevenger (1928) device and yielded a finished essential

oil. The other part was ground into powder using an electric grinder.

2.3. Harvesting and preparation of plant material

For powder application; 10 adult *T. confusum* individuals were introduced in petri dishes each containing 0.4 g of flour mixed with *S. molle* plant's powder.

For essential oil test; a batch of 10 *T. confusum* adult individuals was introduced into each petri dish. Four different doses, (5, 10, 15 and 20 µL/mL) along water as control treatment, were prepared to evaluate effectiveness against *T. confusum*. Each treatment was replicated four times in all bioassays. Mortality of *T. confusum* was considered only after they displayed immobility. Since the application day, data were recorded daily by counting dead adults under a stereo microscope. Mortalities were expressed according to Abbott's (1925) formula.

2.4. Repellency effect of essential oil

The insecticide test procedure used in this study was adopted from the method by McDonald et al. (1970). Petri dishes (9 cm diameter) lined with a filter paper divided into two parts were used. Four doses of *S. molle* solution (5, 10, 15 and 20 µL/mL) were applied on filter paper and then placed on one side and the opposite side stayed untreated.

After two hours, the number of insects that were present on one side with the filter paper treated with essential oil (Nt) and the number of insects present on the part not treated (Nc) were recorded. The percentage repellence (PR) of the essential oil was calculated using the following formula:

$$PR \% = Nc - Nt \times 100$$

The average percentage repellence for essential oil was calculated and assigned according to the classification of McDonald et al. (1970), with which different repellent classes range from 0 to V:

Class 0 (PR < 0.1%)	Class III (PR = 40.1 - 60%)
Class I (PR = 0.1 - 20%)	Class IV (PR = 60.1 - 80%)
Class II (PR = 20.1 - 40%)	Class V (PR = 80.1 - 100%)

3. Results

3.1. Life cycle of *Tribolium confusum*

Experimental observation showed that females of *T. confusum* laid their eggs directly on the flour substrates and sometimes on the walls of the Petri dishes 3 days after mating. Eggs incubation time was 10 days. As observed

from the study, larval development of insect took place on substrate material. The larvae L1 that emerged from the egg were very mobile and could penetrate perfectly into both seeds and substrate. The 1st larval stage lasted 2 days after which the larvae reached the molting stage. The development of L2 takes 2 to 3 days in order to become the 3rd stage larva. Larvae stages: L4, L5, L6; L7; L8 are larger in size. The larval development generally last 18 days. However, it is so difficult to discretize larvae into stages as they differ in size without any differentiation in terms of external morphology.

This study resulted into an estimated fecundity of 78 eggs/female, a fertility of 69%, a sex ratio of 1.06 and 6 months of life span. The developmental cycle of *T. confusum* on flour powder lasted 30±1 days under laboratory conditions as 28 °C of temperature and 75% of Relative Humidity. The number of molted larvae varied from 4 to 8 larval stages according to Relative Humidity.

3.2. Contact effect of powder and essential oil of *Schinus molle* on *Tribolium confusum*

The adults (males and females) of *T. confusum* survived for less than 24 hours in the batches treated with *S. mole*'s powder and the mortality rate reached 100%. According to the results obtained, while the mortality rate for powder treatment reached 100% in early 24 hours, no death recorded in control treatments even during early 96 hours.

Figure 1 was indicated that the mortality rate of *T. confusum* adults evolved proportional to the rise in doses used (5, 10, 15 and 20 µL/mL) and to the duration of their exposure. Moreover, the mortality rate after 24 hours at 15 µL and 20 µL doses reached 100%. However, for essential oil treatments no mortality recorded in the control treatments during the whole exposure time. The lowest oil dose (5 µL/mL) showed a biocidal effect in early 24 hours of exposure on both females and males of *T. confusum*. The analysis of variance resulted into a significant effect with F Cal= 6.95 and F Theo= 2.94.

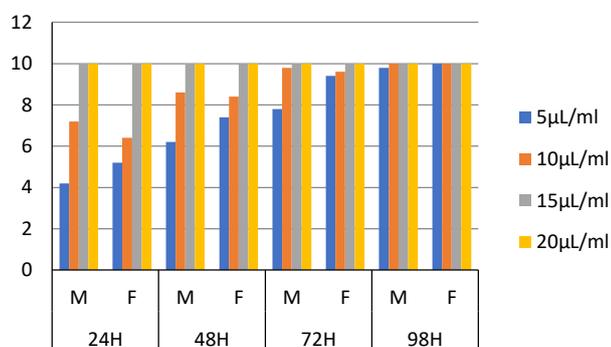


Figure 1. Bio-insecticidal contact effect of *S. molle* against *T. confusum* adults

3.3. Repellency effect of essential oil of *Schinus molle*

According to the results presented in Table 1, after two hours of exposure, the oil of *S. molle* into four doses (5, 10, 15 and 20 µL/mL) appeared significantly repellent to *T. confusum* adults at 78%, 86%, 95% and 100% respectively. It was determined that the repellent ratio increased as the dose of the applied oil increased.

Table 1. The repellent ratios of *Schinus molle* dosages

EO	5µL	10µL	15µL	20µL	PR %
<i>S. molle</i>	78%	86%	95%	100%	89.75%

4. Discussion

This study carried out on *T. confusum* especially on its biological parameters resulted into an average biological cycle period of 30±1 days under laboratory conditions (28 °C and 70% RH), by which larval and pupal stages are predominant in terms of lifespan. According to Mils (2012), adult stage of *T. confusum* was reached after 28 days of oviposition under optimal conditions of temperature (31 °C) and humidity.

This work's results come so related to those obtained by Gueye et al. (2001), who recorded a life cycle length of 30.42±2.02 days in *T. castaneum* when raised on broken millet under the temperature of 24.5-31 °C and Relative Humidity of 41-80%. According to Dawson (1964), the life cycle lasted 33 days at 28.5 °C of temperature and Relative Humidity varying between 65 and 75%. *T. castaneum* is easy to raise within a relatively short development cycle of 30 days. On the other hand, it possesses an exceptionally long life-span, varying from six months to four years and high fecundity (Bonneton, 2010). Young (1970) reported a life cycle of *T. castaneum*, divided into 4.7 days for eggs, 20 days for larvae and 6.7 days for pupae. The adult that emerged from the pupa lives for an average of 6 months but can survive up to a year and a half. Holdaway (1932) reported that the hatching rate increases with increasing temperature. The ideal temperature for hatching is 28.5 °C.

Eggs hatch after 5 to 12 days depending on temperature and Relative Humidity of *T. castaneum* (How, 1956). The temperature, Relative Humidity, type of availed food substrates are always the main factors affecting duration of the developmental cycle of *T. confusum*. For instance, the study of Diome (2012), one part of which highlights the effect of food on the bio ecology of this insect, has shown that among grains, those of millet are more favourable to the development of *T. castaneum*. Thus, the nature of the food provides a clear effect on the development of the subject insect. Gueye et al. (2015) noted that the larvae are so active and prompt feeding. They are white in hue with yellow and moult 5 to 11 times.

Larvae go through 5 to 11 moults before reaching 5 mm long at their growth ending in time between 3 and 9 weeks. According to Diome (2012), rearing this insect on flour powder permitted a clear observation of the pupal development as it took place on the substrates. The adult emerged from pupa six days after pupation and its thermal optimum is between 32 and 33 °C. Camara, (2009) reported that its development has to cease below 22 °C and it resists very well to low levels of hygrometry.

Our results corroborate those of Gueye et al. (2015) concerning the fertility of *T. castaneum*, they noted a fertility of 84.31% on millet flour and a sex ratio 1.9 ± 0.1 on the same substrate. According to Robinson (2005), egg viability ratio is 90%. At a temperature of 30 °C, eggs hatch after 5 days. However, incubation period requires at least 10 days under adverse conditions. The same author showed that under favourable conditions, there are 5 to 11 larval stages. Under 30 °C of temperature, adult emerges from the pupa six days after its formation, completing the cycle in 26 to 30 days.

In contact toxicity bioassays, Hassanali (2001) applied essential oils from the leaves of *S. molle* against *R. dominica* adults and recorded the highest effect, with LD₅₀ values of 0.88 mg cm².

Descamps et al. (2008) recorded that the essential oil of false pepper was showing negative effect on adults and larvae of *Sitobion avenae* (Homoptera:Aphididae) after use of essential oil of false pepper on the adults of *Sitobion avenae* (Homoptera:Aphididae). In addition, Descamps et al. (2008) recorded a cl 50:30.71 mg ml⁻¹ after 24h of treatment.

Lilian et al. (2011) demonstrated that the essential oils and extracts from *Schinu sareira* belonging to Anacardiaceae family displays an insecticidal activity. They found a contact and repellent toxicity to the larvae and adults of *T. castaneum*. In addition, Stefanazzi et al. (2006) found that an essential oil of *Tagetes ternifolia* (Asteraceae) produced a post ingestion toxicity on stored grain pest (*Tribolium castaneum*).

Righi et al. (2018) recorded a mortality rate of 100% after the third day of treatment with 25 µL/mL dose of *S. molle* oil. Recently, a number of studies of insecticidal and repellent properties of extracts from *S. molle* in different insects have been published (Asma et al., 2018; Righi et al., 2018; Abdel-Sattar et al., 2009; Benzi et al., 2009; Bayramoglu et al., 2008; Ferrero et al., 2007; Padin et al., 2007; Chopa et al., 2006; Gonzales., 2006; Ruffinengo et al., 2005).

The results obtained by Deveci et al. (2010) indicated that essential oil and hexanic extracts from *S. molle* showed a significantly potential effect in terms of repellency. Chopa

et al. (2006) reported high repellence of an essential oils from ripe fruits of *S. mole* against German cockroach.

According to Abdel-Sattar et al. (2010), fruits and leaves of false pepper tree showed repellent and insecticidal effects against insects belonging to other taxonomical orders like *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera:Tenebrionidae). The recorded mortality rate was 53.3% after 2 days and 93.3% after 6 days respectively at the concentration of 1000 µL 10 mL⁻¹ and with LC₅₀'s of 325.6 and 286.1 µL 10mL⁻¹ respectively.

The insecticide efficacy of the extracts from leaves of *S. molle* has been observed also in their repellent and anti-feeding activities on the house fly, *Musca domestica* L. (Wimalaratne et al., 1996). Steinbauer and Martin (1995) in their investigations demonstrated that *S.molle* leaf powder had a repellent effect on *T. confusum*.

5. Conclusion

It is so noticeable that *T. confusum* is a threat to Algerian general economy and agriculture. This work is admitting the importance of knowledge on development and the behaviour of *T. confusum* toward its management. This study shows that the plant, *S. molle* is proven effective in both protection of storage products against the attacks of threatening insects by repellency and control in case of infestation through their lethality effect. There must be a hope for at least a reduction of the use of synthetic pesticides particularly for the storeroom grains. This must be so beneficial to health for there must be no contact of such pesticides with directly consumable produces.

Author Contributions

Sekrane FATİMA ZOHRA YOUSRA; Righi Assia FATİHA; Righi KADA; Yahia BOUKHARI: Conceptualization, Validation, Resource/Material/Instrument Supply, Supervision/ Observation/Advice, Methodology, Investigation.
İsmail Karaca: Review and Editing; Validation, Visualization

Conflict of Interest

As the authors of this study, we declare that we do not have any conflict of interest statement.

Ethics Committee Approval

As the authors of this study, we declare that we do not have any ethics committee approval.

References

Abbassi, K., Mergaoui, L., Atay-Kadiri, Z., Ghaout, S., & Stambouli, A. (2005). Activités biologiques des feuilles de

Peganumharmala (Zygophyllaceae) en floraisonsur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin. *Zoologyca Baetica*, 16, 31-46.

- Abbot W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*, 18, 265–267.
- Abdel-Sattar, E., Zaitoun, A., Farag, M., El-Gayed, S., & Harraz, F. (2009). Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinusmolle* L. Leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Journal of Natural Medicines*, 25, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11418-008-0305-5>
- Asma, A., Shojaaddini, M., Tajabadipour, A., & Fatemeh, S. (2018). Composition of *Pistacia khinjuk* (Anacardiaceae) leaf essential oil and its insecticidal activity on common Pistachio psyllid, *Agonoscaena pistaciae* (Hem. Psylloidea). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(3), 796-802. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1498397>
- Bayramoğlu, E. E., Gülümser, G., & Karaboz, I. (2008). The investigation of antibacterial activities of some essential oils in wet blue leather. *International Journal of Natural and Engineering Science*, 2(1), 33-36.
- Bekele, J., & Hassanali, A. (2001). Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post- harvest insect pests. *Phytochemistry*, 57, 385-391.
- Benzi, V., Stefanazzi, N., & Ferrero, A. A. (2009). Biological activity of essential oils from leaves and fruits of pepper tree (*Schinus mole* L.) to control rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.), *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(2), 154-159.
- Camara, A. (2009). Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (Coléoptères curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coléoptère Ténébrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'élevage traditionnelle pratiquée en Basse Guinée et utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse d'obtention du titre de Docteur en Science de l'environnement, Université du Québec à Montréal. 173p.
- Chopa, C. S., Alzogaray, R. A., & Ferrero, A. A. (2006). Repellency Assays with *Schinus mole* var. *areira* (L.) (Anacardiaceae) essential oils against *Blattella germanica* L. (Blattodea: Blattellidae). *BioAssay*, 1(6), 1-3.
- Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil, *Journal of the American Pharmacists Association*, 17, 341-346.
- Dawson, P. S. (1964). Age at sexual maturity in female flour beetles *Tribolium castaneum* and *T. confusum*. *Annals of the Entomological Society of America*, 57, 1-3.
- Delobel, A., & Tran, M. (1993). Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. OSTROM/CTA, Faune tropicale XXXII. 439p.
- Descamps, L. R., Stefanazzi, N., Sánchez, C., & Ferrero, A. A. (2008). Actividad biológica de extractos vegetales de *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) en *Tribolium castaneum* Herbst. (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae), plaga de granoalmacenado. *Boletín Sanidad Vegetal*, 34, 595-605.
- Deveci, O., Sukan, A., Tüzün, N., & Kocabaş, E. E. H. (2010). Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21), 2211-2216. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.326>
- Diome, T., Thiaw, C., Ndong, A., Sarr, M., Kane, M., & Sembène, M. (2012). Haplotype diversity of *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera, Tenebrionidae) pest of stored millet in Senegal. *Journal of Cell and Animal Biology*, 6(13), 192-199. <https://doi.org/10.5897/JCAB12.037>
- Food and Agriculture Organization (FAO), (2006). Food Security, Policy brief (2). Access address: www.fao.org
- Ferrero, A. A., Chopa, C. S., Gonzalez, J. O. W., & Alzogaray, R. A. (2007). Repellence and toxicity of *Schinus mole* extracts on *Blattella germanica*. *Fitoterapia*, 78(4), 311-314. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.11.021>
- Goodnight, C. J., & Craig, D. M. (1996). The effect of coexistence on competitive outcome in *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *Evolution*, 50(3), 1241-1250. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.tb02364.x>
- Guèye, M. T., Seck, D., Wathelet, J. P. & Lognay, G. (2001). Lutte contre le Ravageurs des stocks de céréales et de légumineux au Sénégal et en Afrique occidentales: synthèse 7 bibliographique. *Biotechnologie, Agronomie, Societe et Environnement*, 15(1), 183-194.
- Holdaway, F. G., (1932). An experimental study of the growth of populations of the "flour beetle" *tribolium confusum* duval, as affected by atmospheric moisture. *Ecological Monographs*, 2(3), 261-304.
- Howe, R. W. (1956). The effect of temperature and humidity on the rate of development and mortality of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae). *Annals of Applied Biology*, 44(2), 356–368. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1956.tb02128.x>
- Descamps, L. R., Chopa, C. S., & Ferrero, A. A. (2011). Activity of *Schinus areira* (Anacardiaceae) Essential Oils against the Grain Storage Pest *Tribolium castaneum*. *Naturel Product Communications*, 6(6), 887-891. <https://doi.org/10.1177/1934578X1100600632>
- Mason, L. J. (2018). Red and Confused flour beetles *Tribolium castaneum* (Bhst.) and *Tribolium confusum* Duval. *Extension Entomology*, Stored product pests. E-224-W. Access address: www.extension.purdue.edu.
- McDonald, L. L., Guy, R. H., & Speirs, R. D. (1970). *Preliminary evaluation of new candidate mate rials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Res. Rep n° 882*. Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Washington.
- Padin, E. V., Pose, G. N., Pollio, & M. L. (2007). Antibacterial activity of Oleoresin from Aguaribay (*Schinus molle*L.). *Journal Food Technology*, 5(1), 5-8.
- Righi, K., Righi, R., Boubkeur, A., & Boungab, K. (2018). Toxicity and repellency of three Algerian medicinal plants against

pests of stored product: *Ryzoperthadominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae). *Banat's Journal of Biotechnology*, 9(17), 50-59. [https://doi.org/10.7904/2068-4738-IX\(17\)-50](https://doi.org/10.7904/2068-4738-IX(17)-50).

Ruffinengo, S., Eguaras, M., Floris, I., Faverin, C., Bailac, P., & Ponzi, M. (2005). LD₅₀ and repellent effects of essential oils from Argentinean wild plant species on *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology*, 98, 651-655.

Steinbauer, M. J. (1995). The insecticidal and repellent activity of *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) against *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera:Drosophilidae) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera:Tenebrionidae). *General and Applied Entomology*, 26, 13-18.

Stefanazzi, N., Gutiérrez, M. M., Stadler, T., Bonini, N. A. & Ferrero, A. A. (2006). Actividad biológica del aceite esencial de *Tagetes terniflora* Kunth (Asteraceae) en *Tribolium castaneum* Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae). *Boletin de Sanidad Vegetal – Plagas Acronimo*, 32, 439-447.

Wimalaratne, P. D. C., Slessor, K. N., Borden, J. H., Chong, L. J., & Abate, T. (1996). Isolation and identification of house fly, *Musca domestica* L., repellents from pepper tree, *Schinus molle* L. *Journal of Chemical Ecology*, 22, 49–59. <https://doi.org/10.1007/BF02040199>

Young, A. M. (1970). Predation and abundance in populations of flour beetles. *Ecology*, 51, 602-619. <https://doi.org/10.2307/1934040>

Les Ravageurs des Denrées Stockées: Importance Economique et Développement d'une Approche de Lutte Intégrée

SEKRANE F.Z.Y.

Fac. SNV. Laboratoire LRSBG
Université Mustapha Stambouli Mascara

Résumé

Les denrées stockées sont constamment menacées par plusieurs agents de détérioration qui sont responsables des pertes qualitatives et quantitatives dont les insectes et plus particulièrement *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*. Afin de contribuer à l'élaboration d'une stratégie de lutte intégrée vis-à-vis de ces deux ravageurs, un ensemble de méthode de lutte a été évalué sous des conditions contrôlées de laboratoire (T : 28°C et H 75%). On se basant sur les résultats d'identification moléculaire de *T confusum* et *S oryzae*. l'ADN des deux espèces amplifiées était avec précision (99,99%). L'étude bioécologique réalisée pour chaque espèce a démontré l'intérêt des paramètres biologiques tel que la fécondité, la fertilité, la longévité, la durée du cycle de développement ainsi que la durée d'incubation dans la maîtrise des ravageurs au temps opportun quelque soit la méthode de lutte utilisée. l'inventaire des insectes des denrées stockées étudié a révélé que *S oryzae* et *T confusum* sont très fréquentes, leurs pourcentage d'attaque (PA%) calculé est respectivement 98,42% et 95%. Le calcul des rendements des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Thymus vulgaris* et *Schinus molle* est respectivement 1.86, 1.77, 1.70, 2.04 et 1.65%. Afin de déterminer les molécules responsables de l'effet biocide engendré sur les insectes par l'HE de *Thymus vulgaris*, une analyse par (CPG/SM) a été réalisée et qui a permis d'identifier 362 composés dont le Carcacrol (36.61), Gamma – Terpinene (2.99%), Carvomenthone (3.08%) et p-Cimene (2.11%). De même le criblage phytochimique a révélé que les extraits aqueux sont riches en : polyphénols, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, quinones et anthraquinones. Ces résultats nous ont aidé à expliquer le potentiel insecticide que possède nos plantes. La lutte biologique par utilisation d'une part des plantes médicinales a démontré que les plantes testées possèdent des propriétés bio insecticides remarquables surtout la poudre et l'huile extraite à partir de *M. rotundifolia* qui ont enregistré des taux de mortalité de (100%) à la plus faible dose et d'autre part par l'utilisation de l'entomophage *Beauveria bassiana* qui a causé des taux de mortalité importants (100%) au bout de 98H. Une autre voie de lutte est étudiée dans le contexte de cet axe de recherche, il s'agit de la lutte physique par exposition des deux espèces à des températures maximales létales comprises entre (37°C et 50°C) et des températures minimales létales comprises entre (0°C et -4°C) pendant deux jours. Ces températures ont engendré des taux de mortalité de 100%. Dans le but de compléter notre approche de lutte intégrée, un test d'un produit de synthèse (le Thiazoline) à la dose de 2µg/ml est réalisé. Les résultats ont montré des taux de mortalité de 100% chez les deux espèces après 72 heures. Notre recherche est achevée par une étude toxicologique menée sur la ras Wistar pendant 91 jours et qui a démontré que les plantes testées comme bio insecticides ne présentent aucun danger sur la santé du consommateur une fois appliquées pour protéger les denrées stockées, encore plus elles possèdent des propriétés antioxydantes puissantes selon nos résultats.

Mots clés : Blé, Bio insecticide, Denrées stockées, Lutte intégrée, *Sitophilus oryzae*, Toxicité, *Tribolium confusum*, *Beauveria bassiana*.