2. MATERIEL ET METHODES

2.1.Présentation de *Rhyzopertha dominica*(Fabricius, 1792)

Originaire de l'inde, *R. dominica* F. est devenue cosmopolite grâce au commerce des céréales (Guillaume, 1938 in khalfi-Habes, 2007). L'adulte est de couleur brune plus au moins rougeâtre, de forme cylindrique, allongée et étroite, avec des côtés nettement parallèles. C'est un insecte de petite taille, de 2,3 à 2,8 millimètre de longueur (Fig. 3), avec un prothorax qui couvre entièrement la tête d'où le nom du capucin des grains. Les antennes sont constituées de dix articles, les trois derniers sont fortement dilatés, le pronotum se termine par une rangé de dents régulières (12 à 14). Les adultes s'accouplent et pondent à plusieurs reprises (Steffan, 1978). Les larves possèdent des pattes bien développées ce qui les rendent très agiles. Elles sont cylindriques avec de longues soies, puis incurvées et duvetées à la fin de leur développement (Benayad, 2008). Delobel & Tranc(1993) signalent l'absence du dimorphisme sexuel chez *R. dominica* F.



Figure 1. *Rhyzopertha dominica*(Photos originales, 2018) X45

A : face dorsale ;**B** : face ventrale

Le capucin des grains a été décrit pour la première fois par Fabriciusen 1792,sous le nom de *Synodendron dominicum*, puis en 1924**,** Lesne a donné le nom actuel de *Rhyzopertha dominica*, elle est communément appelé capucin des grains (Delobel & Tranc, 1993).Il s'attaque auxcéréales mais également au manioc et à la patate douce. Ce sont surtout les adultes qui fontdes ravages en s'attaquant au germe et à l'albumen qu'ils réduisent en farine.

Selon Rao & Wilber (1972) in Benkhellat (2002), les adultes consomment parsemaine une quantité de blé d'environ 5 à 6 fois supérieur à leur poids.Ils causent des pertes huit fois plus supérieures à celles des larves quis'alimentent de la farine formée par les adultes (Delobel & Tranc, 1993).

La position systématique de *Rhyzopertha dominica*F. 1792 est la suivante :

Règne	**Animalia**
Embranchement	**Arthropoda**
Sous-embranchement	**Hexapoda**
Classe	**Insecta**
Sous-classe	**Pterygota**
Infra-classe	**Neoptera**
Ordre	**Coleoptera**
Sous-ordre	**Polyphaga**
Infra-ordre	**Bostrichiformia**
Super-famille	**Bostrichoidea**
Famille	**Bostrichidae**
Sous-famille	**Dinoderinae**
Genre	***Rhyzopertha***
Espèce	***Rhyzoperthadominica*F.1792**

2.1.1Cycle biologique

L'accouplement et la ponte ont lieu en avril ou mai, quand les températures sont élevées(Lepigre, 1951). Les femelles pondent de 300 à 600 œufs à la surface des grains, à l'intérieurou parmi les débris, ils sont déposés isolement ou en petit amas (Lepesme,1944).

D'après Balachowsky & Mensil (1936)la durée de développement du capucin des gains est essentiellement liée à la température et à la teneur en eau des grains. Selon (Moulier & Brette 1955) in (Chella & Azegagh 2004),le cycle dure 28 jours dans les conditions de laboratoire (Température 34°C, Humidité relative à 70%, 14% la teneur en eau des grains).

Il est important de signaler que dans les mêmes conditions de température et d'humidité relative, la durée de développement est la fonction de la nature de la denrée et varie considérablement d'un individu à un autre.



Figure 2. Capucin des grains

Source : www.grainscanada.gc.ca/storage-entrepose

a. Pente et éclosion : Les femelles s'accouplent plusieurs fois au coursde leur vie qui peut atteindre 8 mois et elles pondent en conditions favorables de 300 à 400 œufs environ. Avant la ponte,la femelle produit une grande quantité de farine non digérée qui permet l'établissement des larves néonates(Flaurat-Lessard, 1982).

Les œufs sont piriformes, blancs ou rosés, isolés ou en petits paquets (Balachowsky, 1962). La durée moyenne d'incubation est de 15 jours à 26°C et de 65% d'humidité relative (Potter,1935).

b. Evolution larvaire : Après l'éclosion les larves s'introduisent dans les grains en creusant des tunnels aux alentours du germe et continuent leur développement à l'intérieur (Thomson, 1966).Au cours de son développement, la larve passe par 4 stades(Balachowsky, 1962).

Les larves du 1er stade sont de type Chrysomélien (pourvues de pattes) ; les trois (3) derniers stades sont apodes de type Rhynchophorien (Mourier, 1979). Au 1 er âge, elle mesure 1 à 1,5 mm de long. Au dernier stade elle atteint 2,5 à 3 mm, fortement incurvée et épaisse, blanche avec des soies foncées, segment anal renflé, tête grosse et brune ornée de poils bruns, pattes assez grandes brunes (Mourier, 1979).Les larves de ces insectes ont un régime Clétrophage exclusivement car elles vivent dans les grains(Flaurat-Lessard, 1982).

c. La nymphose :a lieu dans une cavité du grain. A la fin du dernier stade larvaire, la larve s'immobilise, cesse de se nourrir et se transforme en nymphe immobile. La nymphe est libre

dans la galerie creusée dans le grain par la larve à la fin de son dernier stade.Elle se nymphose au bout de vingt jours. Les adultes apparaissent de 5 à 8 jours plus tard et se reproduisent aussitôt(Fleuraat, 1982).

2.1.2. Les dégâts causés

Les préjudices sont causés par les adultes qui détruisent le germe et l'albumine desgrains. Ce sont des insectes très voraces qui s'alimentent que d'une fraction de l'amandequ'ils réduisent en poussière (Khalfi - Habbes, 2007). Selon Rao & Wilber (1972) inBenkhellat (2002), les dégâts sont surtout commis par les adultes qui consomment parsemaine une quantité de blé d'environ 5 à 6 fois supérieur à leur poids.Les adultes causent des pertes huit fois plus supérieures à celles des larves quis'alimentent de la farine formée par les adultes (Delobel & Tranc, 1993).

2.2. Techniques d'élevage au laboratoire

L'élevage en masse est réaliséchez un agriculteur de la région de Tébessa. Les individussont ramenés au laboratoire deBiologie Animale, où ilsont subit un tamisage à l'aide d'un tamis de 2mm pour la sélection d'espèce ciblée**(Fig. 3).**Les individus de *Rhyzoperthadominica* sélectionnéssont déposés dans des bocaux en verre (2L) dont chacun contient 1kg des grains sains de blé dur non infesté ou traité, utilisés comme substrat alimentaire provenant de la coopérative des céréales et des légumes secs. Les bocaux sont recouverts d'un morceau de tulle maintenu par un élastique à une température de 27 ± 1 °C, une humidité relative de 65 ± 5% % et une photopériode de 12heures**(Fig. 3).**L'élevage est suivi quotidiennement et les adultes nouvellement exuviés sont utilisées pour toutes les expérimentations.



Figure 3. Tri et Elevage du capucin au laboratoire (Photo originale, 2018).

2.3Présentation de *Lavandula angustifolia*(Miller, 1768)

Lavande vraie, ou lavande fine, appelée communément par la population locale **« khzama».** Elle pousse dans les montagnes calcaires de 500 à 1800 m d'altitude et il semble que l'altitude accentue encore la suavité de son odeur(Kothe, 2007).



Figure 4.*Lavandula angustifolia*(Miller, 1768).

2.3.1. Description botanique

- Les racines sont pivotantes, à rameaux simples, touffus non ramifiés et lignifiée.La racine principale est droite émettent des racines secondaires nombreuses qui s'enfoncent profondément dans la terre en générale caillouteuse, sèche et de nature calcaire, à la recherche d'un maximum d'humidité (Fabiani *et al.,* 2002).

- Les tiges sont courtes, dressées, très ramifiées, ligneuses à la base (Small & Deutsch, 2001).La tendance spiralée des rameaux se résorbe presque en une rosette, portant de longs et mince épis de fleurs(Pelikan, 2002).

- Les feuilles sont étroites, sans pétioles ni dents, allongées, velus de couleur vert bleuté, disposées enpaires opposées et de taille réduite afin de mieux supporter la sècheresse.Les jeunes feuilles sont souvent blanchâtres, ce qui donne à la plante sa teinte gris argenté caractéristique. Les feuilles peuvent mesurer jusqu'à 5 cm de longueur et sont à la fois amères et aromatiques (Fabiani *et al.,* 2002).

- Les fleurs sont hermaphrodites, les sépales sont au nombre de cinq et sont soudés pour former le calice tubulaire. Dans le creux des sillons on trouve des cellules sécrétrices d'essence. Ce sont les poils ou trichomes qui donnent au calice son aspect duveteux, participent à l'équilibre hydrique de la plante, protègent la formation productrice d'essence et renferment de l'anthocyane responsable de la couleur des fleurs(Fabiani *et al.,* 2002).

Laposition systématique de *Lavandula angustifolia***Miller, 1768** est la suivante :

Règne	**Plantae**
S/ Règne	**Plantes vasculaires**
Embranchement	**Spermaphytes**
S/Embranchement	**Angiospermes**
Classe	**Dicotyledones**
S/Classe	**Dialypétales**
Ordre	**Lamiales(Labiales)**
Famille	**Lamiaceae**
Genre	***Lavandula***
Espèce	***Lavandulaangustifolia*M, 1768**

2.3.2.Répartition géographique et utilisation de la plante

Elle pousse à l'état indigène dans certaines îles de l'Atlantique et depuis le bassin méditerranéen jusqu'au nord de l'Afrique tropicale, au Moyen Orient, à l'Arabie et à l'Inde(Small & Deutsch, 2001). Certaines se plaisent dans les collines incultes, d'autres préfèrent les bordures de forêts de chênes verts ou les lisières de bois d'oliviers. Leurs stations naturelles s'étendent du bord de mer jusqu'à des altitudes de 2500 m. Mais toutes aiment les terrains secs, légers, sablonneux et pierreux, bien drainés(Vialard, 2008).

La lavande contient diverses molécules qui ont un intérêt médicinal, dont le linalol, l'acétate de linalyle, du limonène, du cinéole, de l'eugénol.... Généralement, la fleur est distillée afin d'obtenir de l'huile essentielle qui a de multiples vertus. Seules l'huile essentielle provenant de cette espèces (*Lavandula angustifolia*) bénéficie de l'appellation d'origine contrôlée (AOC) cette espèce est inscrite à la Pharmacopée française (Xème édition) (Meunier, 1999).

Ainsi, la lavande peut être utilisée comme calmant, antidépressif et sédatif. Elle est aussi utilisée comme antalgique, anti-inflammatoire, antiseptique et cicatrisant. Elle est également antibactérienne(Elharas *et al.,* 2013)et ses qualités hypotensives et antispasmodiques sont appréciées(Schauenberg*et al.,* 2010).

2.7.Extraction des huilesessentielles

L'extraction des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia*a été réalisée par hydrodistillation durant 3 heures, utilisant un montage de type CLEVENGER, constitué d'unchauffe ballon,unballonenverrepyrexoùonplace une biomasse de 50g de matériel végétal séchéavec 500 ml d'eau distillée, unréfrigérantet un collecteur **(Fig.8).**

L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation**(Fig. 8)** est ensuite conservée à 4°C avant son utilisation, dans des petits flacons bien fermés, en verre ombré.

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HEs et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité(Bruneton, 1993).

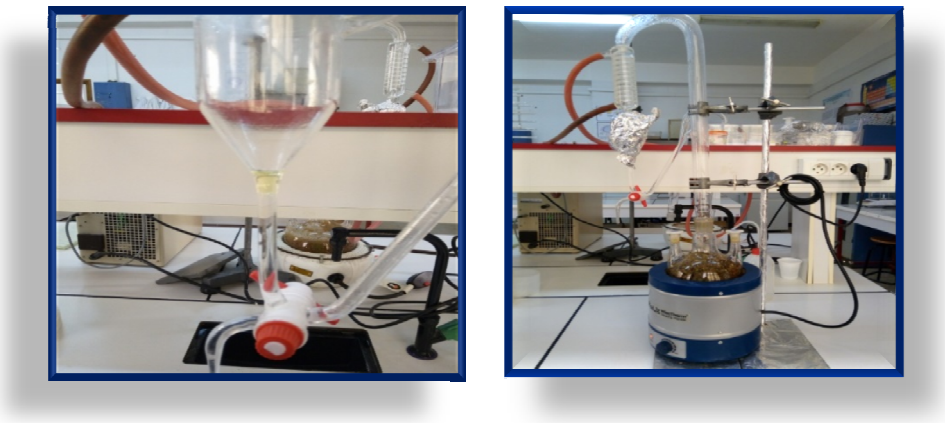


Figure 9. Montage de l'hydrodistillateur de type CLEVENGER.

(Photo originale, 2018)

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, évalué à partir de 3 échantillons. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = [\Sigma P_B / \Sigma P_A] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

P_A : Poids de la matière sèche de la plante en g

P_B : Poids de l'huile en g.

.

2.9. Traitementet Essai insecticide

Afin de mettre en évidence l'efficacité des huiles essentielles et de la poudre de *Lavandula angustifolia*et de définir les concentrations létales (CL_{50}, CL_{90})à l'égard desadultes de*Rhyzopertha dominica.*

2.9.1. Application topiquedes HEs

Après un screening préalable, l'huile essentielle a été appliquée par voietopique avec différentes concentrations : 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 et 1ml,sur la face ventrale des adultes de *R. dominica*. Le traitement a été réalisé dans des boîtes de pétri (90mm) contenant5g de blé sain **(Fig.12)**. Six répétitions de 10 individus ont été réalisées pour chaque concentration testée. Par ailleurs, une série témoin négative sans aucun traitement est conduite en parallèle avec une série témoin positive dont les individus reçoivent 1µl d'acétone.Les boîtes de pétri sont maintenues dans une étuve réglée à 25°C.Les mortalitésont été enregistréesà 24, 48 et 72h après traitement.Les insectes incapables de bouger la tête et les antennes sont considérés comme morts.

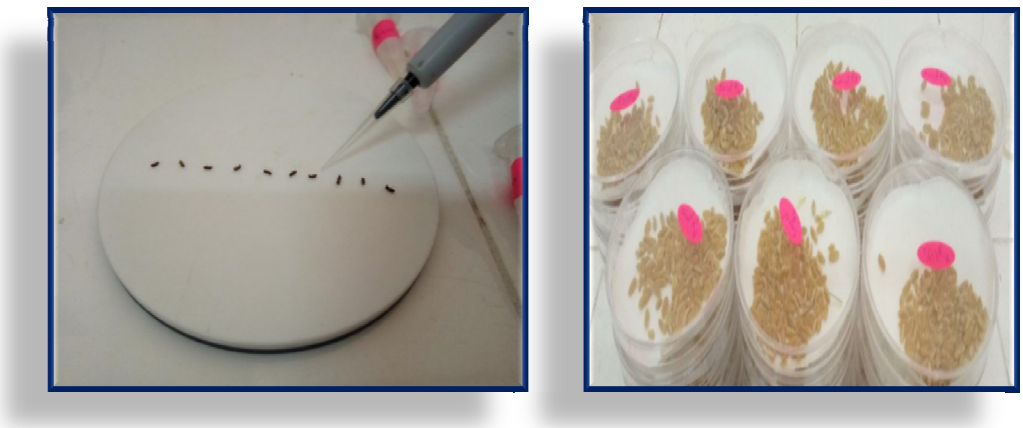


Figure 12.Application des HEs par voie topique.

(Photos originales, 2018)

2.9.2.Application de la poudre

Afin de mettre en évidence l'efficacité de la poudre de*Lavandula angustifolia*, une étude toxicologique a été menée chez les adultes de*Rhyzopertha dominica***.**L'essai est conduit en utilisant différentes quantitésde la poudre (0,25, 0,5,0,75, 1 et 1,25 g)sont mélangées avec 25 g de blé sainsoit 1, 2, 3, 4 et 5% du poids des graines.Le traitement a été fait dans des flacons stériles à usage unique de 60ml de volume,contenant chacune10individus d'insectesadultes sexes confondus.Six répétitions ont été réalisées avec une série témoin conduite en parallèle. Letout a étémaintenudansune étuveréglée à25 °C**(Fig.13).**Le suivi de mortalité est réalisé à 24, 48, et72h après traitement.

Les mortalités observéesont été corrigées selon la formule d'Abbott (1925), afin d'éliminer la mortalité naturelle. Les concentrations létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM 7.



Figure 13.Application de la poudre de *L. angustifolia.*
(Photo originale, 2018).

2.11. Analyse statistique

Les moyennes ± SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test t de Student et l'analyse de la variance à un critère de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les échantillons pour toutes les expérimentations (MINITAB, version 2017).