

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL Harrach ALGER
THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER EN SCIENCES AGRONOMIQUES
Spécialité : Zoologie Agricole et Forestière
Option : Ecologie des Communautés Biologiques.

***Effet entomotoxique de quelques variétés
de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la
bruche du pois chiche *Callosobruchus
maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).***

Par : Melle KARBACHE Fatima

Directrice de thèse Mme MOUHOUCHE F. Maitre de Conférences
Soutenue le 10.12.2009

Devant le Jury : Présidente Mme BENMESSAOUD-BOUKHALFA H. Maitre de Conférences
Examineurs Mr SELLAMI M. Professeur Mr. BOUFERSAOUI A. Professeur

Table des matières

Remerciements . . .	4
Résumé . . .	5
Abstract . . .	7
ص غلم . . .	9
INTRODUCTION GENERALE . . .	10
Partie I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE . . .	12
CHAPITRE I : LES SUBSTANCES ENTOMOTOXIQUES DES LEGUMINEUSES . . .	12
1. les substances entomotoxiques non protéiques . . .	12
2. Les substances entomotoxiques de nature protéique . . .	14
CHAPITRE II: SYNTHÈSE DES DONNÉES SUR LE HARICOT COMMUN <i>Phaseolus vulgaris</i> . . .	21
1. Origine et historique . . .	22
2. Importance économique du haricot . . .	22
3. Variabilité génétique . . .	24
4. Composition biochimique globale des graines de haricot . . .	24
5. Intérêt médical . . .	27
CHAPITRE III: DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA BIOÉCOLOGIE DE <i>Callosobruchus maculatus</i> L. ET LES MOYENS DE LUTTE. . .	27
1. Aperçu bioécologique sur <i>Callosobruchus maculatus</i> F. . .	28
2. Stratégies et moyens de lutte contre <i>Callosobruchus maculatus</i> F. . .	33
Partie II : PARTIE EXPERIMENTALE. . .	41
CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES . . .	41
1. Sensibilité des variétés de haricot aux attaques de <i>Callosobruchus maculatus</i> F. . .	41
2. Essais de toxicité des variétés de haricot sur <i>Callosobruchus maculatus</i> F. . .	46
3. Expression des résultats . . .	52
CHAPITRE II : RESULTATS ET INTERPRETATIONS . . .	53
1. Etude des paramètres biologiques de <i>Callosobruchus maculatus</i> sur graines entières de haricot et sur graines reconstituées de pois chiche . . .	53
2. Effet de l'extrait de lectines tronquées de variété S102 sur les paramètres biologiques . . .	78
3. Effet des lectines tronquées sur le tube digestif de <i>Callosobruchus maculatus</i> F. . .	84
Conclusion générale . . .	98
References bibliographiques . . .	100

Remerciements

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements et gratitude à ma promotrice Mme Mouhouche F, maître de conférence à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach, pour son aide, et ces multiples interventions constructives.

Qu'il me soit permis de remercier Madame Benmessaoud H., maître de conférence à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Je tiens à remercier Monsieur Sellami M. Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique EL Harrach, pour avoir accepté d'examiner ce travail et de bien vouloir honorer par sa présence, la constitution du jury.

Mes remerciements vont à Monsieur Boufersaoui A., professeur à USTHB Bab Ezzouar, pour avoir accepté d'examiner ce travail et honorer le jury.

Pour terminer, un grand merci à toutes les personnes ayant contribuées, directement ou indirectement à l'aboutissement de ce travail. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier le regretté Mr Belloued pour son aide précieuse, je lui serai toujours reconnaissante

Résumé

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

L'espèce *Callosobruchus maculatus* provoque de sérieux dégâts sur les graines de pois chiche *Cicer arietinum* au niveau des denrées entreposées. Cette étude contribue à une lutte biologique pour l'utilisation d'extrait de haricot contre la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F). En effet, le haricot est doté de composés défensifs généraux en l'occurrence les lectines leur permettant de développer une certaine résistance face aux attaques de ce ravageur. Les essais biologiques sont réalisés dans des conditions de laboratoire ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et $70\% \text{ HR} \pm 5\%$).

L'expérimentation comporte trois grandes parties :

- Une étude comportementale menée sur graines entières de cinq variétés de haricot sur les paramètres biologiques de *Callosobruchus maculatus*.
- L'effet entomotoxique des graines reconstituées enrichies en farine des cinq variétés de haricot aux doses proportionnelles (10, 20, 40, 80 et 100 %) sur plusieurs paramètres biologiques de ce ravageur.
- L'effet entomotoxique des graines reconstituées à base d'extrait issu de la variété jugée la moins sensible suite à l'étude de l'indice de sensibilité aux doses respectives 50, 100 et 200ml et l'effet de cet extrait sur les tissus du tube digestif de *Callosobruchus maculatus*.

Les résultats obtenus montrent que les deux variétés *Phaseolus caracalla* et S102 semblent être les moins sensibles face aux attaques de *C. maculatus*. En effet, elles ralentissent la fécondité, diminuent considérablement la fertilité ou l'annule et retardent le développement larvaire de cet insecte.

Sur graines entières, les résultats de toxicité ont montrés une grande efficacité de *Phaseolus caracalla* suivie par la S102 et affichent un pourcentage de mortalité supérieur à 50% après seulement 03 jours d'exposition.

Sur graines reconstituées de pois chiche, les doses D3= 40% et D4= 80% semblent être les plus efficaces. Les DL50 montrent que *Phaseolus caracalla* est la plus toxique (21.5g) suivie par la S102 (54.59g) puis Pinto (96.54g). Aussi pour des raisons de non disponibilité de *Phaseolus caracalla*, nous avons retenu la S102 pour l'étude de l'effet entomotoxique de son extrait de lectines tronquées sur les paramètres biologiques de *C. maculatus*.

Les résultats obtenus sur graines reconstituées de pois chiche à base d'extrait de lectines tronquées montrent que celui-ci entraîne une diminution de la fécondité au fur et à mesure que la dose augmente et des pourcentages de mortalités corrigées supérieur à 50% au troisième jour d'exposition et ce de la plus faible dose à la plus forte dose (mortalité voisine à 100 % à la plus forte dose). Ces résultats sont confirmés par la DL50 (35.16ml).

L'ensemble des résultats, montre que l'extrait de la variété de haricot S102 est plus efficace que les graines reconstituées enrichies en farine de haricot de cette même variété.

Pour visualiser l'effet des lectines tronquées sur le tractus digestif de *C. maculatus*, des coupes histologiques sont pratiquées sur le tube digestif des adultes témoins, des adultes élevés sur graines reconstituées enrichies de farine de la S102 (D3=40%) et sur des adultes élevés sur graines reconstituées de pois chiche à base d'extrait de lectines tronquées de la S102 (D1=50ml). Par

rapport au témoin, nous observons une altération de l'épithélium et une lyse totale de la membrane péritrophique qui joue le rôle de filtre.

Dans l'avenir, il serait important d'isoler, de purifier ce facteur entomotoxique présent chez le haricot responsable de la mortalité de *Callosobruchus maculatus*, d'étudier la génétique de la résistance par le biais de la biologie moléculaire et d'élucider le mécanisme d'action de ces lectines extraites de graine de haricot, légumineuse largement consommée par l'homme. Cela contribuera à la mise au point d'une lutte non polluante contre les insectes des denrées stockées.

Mots clés : Coléoptères – bruche – *Callosobruchus maculatus* F. - variétés de haricot – lectines – Substances entomotoxiques – Stockage – Tube digestif.

Abstract

Entomotoxic effect of some varieties of bean (*Phaseolus vulgaris*) on the beetle of the chick-pea *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

The species *Callosobruchus maculatus* causes serious damage on chick-pea seeds *Cicer arietinum* on the level of the stored food products. This study contributes to a biological fight for the use of bean extract against the beetle of the chick-pea *Callosobruchus maculatus* (F). Indeed, the bean is equipped with general defensive compounds in fact the lectines enabling them to develop a certain resistance against the attacks of this pest. The biological tests are carried out under conditions of laboratory ($28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and $70\% \text{ HR} \pm 5\%$).

The experimentation comprises three great parts:

- A behavioural study undertaken on whole seeds of five varieties of bean on the biological parameters of *Callosobruchus maculatus*.
- The effect entomotoxic of reconstituted seeds enriched in flour by the five varieties of bean to the amounts proportional (10, 20, 40, 80 and 100%) on several biological parameters on this pest.
- The effect entomotoxic of seeds reconstituted containing extract resulting from the variety considered to be the least sensitive following the study of the index of sensitivity to the respective amounts 50, 100 and 200ml and the effect of this extract on fabrics of the digestive tract of *Callosobruchus maculatus*.

The results obtained show that the two varieties *Phaseolus caracalla* and S102 seem to be the least sensitive against the attacks of *C. maculatus*. Indeed, they slow down fruitfulness, decrease considerably the fertility or cancels it and delay the larval development of this insect.

On whole seeds, the results of toxicity showed a great effectiveness of *Phaseolus caracalla* followed by S102 and post a percentage of mortality higher than 50% after only 03 days of exposure.

On reconstituted chick-pea seeds, the amounts D3= 40% and D4= 80% seem to be most effective. The DL50 show that *Phaseolus caracalla* most toxic (21.5g) is followed by S102 (54.59g) then Pinto (96.54g).

Also for reasons of no availability of *Phaseolus caracalla*, we retained S102 for the entomotoxic study of the effect of its extract of lectines truncated on the biological parameters of *C. maculatus*

The results obtained on reconstituted chick-pea seeds containing extract of lectines truncated show that this one involves a reduction in fruitfulness as the amount increases and the percentages of corrected mortalities higher than 50% at the third day of exposure and this of most low dose with the strongest amount (close mortality with 100% with the strongest amount). These results are confirmed by the DL50 (35.16ml).

The whole of the results shows that the extract of the variety of S102 bean is more effective than reconstituted seeds enriched in bean flour by this same variety.

To visualize the effect of the lectines truncated on the digestive tract of *C. maculatus*, of the histological cuts is practised on the digestive tract of adulate pilot, of the adults raised on reconstituted seeds enriched by flour of S102 (D3=40%) and on adults raised on reconstituted

chick-pea seeds containing truncated extract of lectines of S102 (D1=50ml). Compared to the witness, we observe a deterioration of the epithelium and a total lysis of the peritrophic membrane which plays the part of filter.

In the future, it would be important to insulate, purify this factor entomotoxic present at bean responsible for the mortality of *Callosobruchus maculatus*, to study the genetics of resistance by the means of molecular biology and to elucidate the mechanism of action of these lectines extracted from bean seed, leguminous plant largely consumed by the man. That will contribute to the development of a non polluting fight against the insects of the stored food products.

Key words: Beetles – *Callosobruchus maculatus* F. – varieties of bean – lectines – Substances entomotoxic substance – Storage – Digestive tract

ص خ لم

التأثير الأنتيمونوكسيكي لبعض أنواع بذور الفاصولياء (فاريوليس فلغاريس) على حشرة الحمص كالوزويروكس ماركيس (كوليونيبرا - برونسيديا).

حشرة كالوزويروكس ماركيس تلحق أضرار كبيرة ببذور الحمص المخزنة. هذه الدراسة تساعد على وضع عملية بيولوجية باستعمال مستخلص الفاصولياء ضد كالوزويروكس ماركيس. إذ أنه الفاصولياء تحتوي على مواد وقائية عامة بالخصوص اللكتين الثلاثي تساعد الفاصولياء على تطوير حماية ضد هذا النوع. لقد تمت هذه الدراسة بالظروف المخبرية (25 ± 2 د م و 75% ± 5 من الرطوبة). هذه الدراسة تحتوي على 03 مراحل:

• دراسة السلوك على بذور كالملة لخمسة أنواع من الفاصولياء على العوامل البيولوجية لكالوزويروكس ماركيس.

• التأثير الأنتيمونوكسيكي لبذور مصطنعة عن طريق إضافة مسحوق فريئة الأنواع الخمس للفاصولياء و ذلك وفق جرعات منتظمة التزايد (10, 20, 40, 80 و 100%) على عدة عوامل بيولوجية لهذه الحشرة الضارة.

• التأثير الأنتيمونوكسيكي لبذور مصطنعة وفق استعمال مستخلص نوع الفاصولياء الذي بدأ أقل مثلاً بعد دراسة عامل التأثير وفق الجرعات 50, 100 و 200 مل. كذلك تأثير هذا المستخلص على تسريح الجهاز الهضمي لكالوزويروكس ماركيس.

النتائج المنحصلة عليها تبين أن النوعين فاريوليس كاغكلا و من 102 ضهران الأقل نالرا أثر هجومات كالوزويروكس ماركيس. انهما تحطلان التكتلر نقص بشكل فعل عدد الناسنر او تلغية الي جانب انهما تحطل التطور البيولوجي لهذه الحشرة.

على البذور الكاملة نتائج التسمم توضح ان فاريوليس كاغكلا هي الاكثر سمية ثم تليها من 102 و ذلك بمعدل وفيات يفوق 50% من بعد 03 ايام فقط.

على بذور الحمص المصطنعة الجرعتين 3 = 40% و 4 = 80% تبديان الاكثر اهمية. 50 ضهران ان فاريوليس كاغكلا هي الاكثر سمية (21.5 غ) تليها من 102 (54.59 غ) ثم بينو (96.54 غ). ولحم وفرة النوع فاريوليس كاغكلا اكتفينا باستعمال من 102 لدراسة التأثير الأنتيمونوكسيكي لمستخلصها المتكون من اللكتين المنزوع على العوامل البيولوجية لكالوزويروكس ماركيس.

النتائج المنحصلة عليها على البذور المصنوعة من الحمص باستعمال مستخلص اللكتين المنزوع ضهران ان هذا الاخير يحدث انخفاض في التكتلر مع تزايد الجرعات و بالتالي التحصل على معدل وفيات يفوق 50% في اليوم الثالث و ذلك ابتداء من اصغر جرعة الي اكبرها (معدل وفيات يقارب 100% لا كبر جرعة). هذه النتائج مبرهنة ب 50 (35.16 مل)

جل النتائج ضهران ان مستخلص النوع من 102 اكثر فعالية من البذور المصنوعة ابتداء من فريئة هذا النوع.

من اجل اثبات و رؤية فعالية اللكتين المنزوع على الجهاز الهضمي لكالوزويروكس ماركيس فمنا بانجاز مقطع للبيئة التجريبية للجهاز الهضمي على الشاهد - على الحشرة مترتبة على بذور مصنوعة من فريئة من 102 (40%) و نتائج عن بذور مصنوعة من مستخلص من 102 (50 مل).

مقارنة مع الشاهد نلاحظ زوال الظهارة و تحرب الخشاء البريتروفي التي تلعب دور في النضفية. مستقبلا ي يكون هاما عزل و نضفية الحامل الأنتيمونوكسيكي المتواجد بالفاصولياء المتسببة في موت كالوزويروكس ماركيس. دراية و رائة المقولمة عن طريق البيولوجيا الجزيئية كذلك اظهار عمل و تأثير اللكتين المستخلصة من بذور الفاصولياء بقولية كثيرة الاستهلاك من طرف الانسان. هذا يساعد على توظيف طريقة حماية غير ملوثة ضد حشرات المخزن.

كلمات مفتاح: كولونيبرا - برونس - كالوزويروكس ماركيس - نوع الفاصولياء - لكتين مواد انتيمونوكسيكية - المخزن - جهاز هضمي.

INTRODUCTION GENERALE

Les protéagineux constituent une source de protéines intéressantes en complément des céréales pour l'alimentation humaine, soit sous forme de graines, soit sous forme de produits fractionnés enrichis en protéines (Boutin & al., 2006).

Cette portion protéique n'est pas négligeable puisqu'elle présente 70% de la matière sèche des graines de légumineuses (Boucherit, 1979).

Au niveau mondial, les légumineuses à grosses graines représentent une culture extrêmement importante avec une superficie de 67 millions d'hectares et une production de 56 millions de tonnes (F.A.O., 2006).

En Algérie, la superficie et la production moyenne réservées annuellement aux légumineuses alimentaires sont respectivement de 63.900 ha et 39.000 tonnes pour la période 2003 – 2006.

Le pois chiche *Cicer arietinum*, très appréciée par les algériens, se classe en deuxième position après la fève en superficie et en production avec des moyennes respectives de 20.200 ha et 132615 tonnes. Le rendement reste faible et varie au cours de la même période entre 3,27 qx/ha et 7,02 qx/ha (MAP, 2006) suite aux nombreux problèmes phytosanitaires dont les plus dommageables sont provoqués par les coléoptères des denrées stockées (Multon, 1982). Les dégâts provoqués par ces insectes sont d'autant plus graves que ces insectes possèdent un pouvoir de multiplication élevé. En effet, chaque année, les légumineuses à grosses graines subissent des pertes considérables de l'ordre de 800g/kg de graines en quelques mois (Ouedraogo & al, 1996). Ces dégâts sont estimés à 30% en Afrique (Rodrigues Macedo & al., 2000).

Pour lutter contre ce fléau mondial, l'utilisation de pesticides, bien que très efficace, s'est révélée dangereuse. Ainsi, avec le souci grandissant du respect de l'environnement, de la santé humaine et animal, la lutte biologique au sens large du terme est appelée à se développer.

Dans ce contexte, les légumineuses ont su au cours de leur évolution s'équiper de tout un arsenal de substances végétales entre autre les lectines, leur permettant de se défendre contre les ravageurs.

Les premiers travaux portant sur l'identification de lectines comme facteurs biochimiques de résistance des plantes à des insectes concernent essentiellement les coléoptères. En 1976, Janzen et Juster montrent que les larves de *Callosobruchus maculatus* F. sont incapables d'attaquer les graines de haricot commun *Phaseolus vulgaris*. En effet, ce dernier est doté de plusieurs composés défensifs généraux en l'occurrence les lectines dont les phytohemagglutinines (PHA) qui protègent leurs graines contre les ravageurs appartenants à des taxons différents.

Depuis quelques années, d'autres travaux ont été réalisés afin de démontrer l'activité entomotoxique des substances élaborées par les légumineuses (Mouhouche et Fleurat lessard, 2003 ; Mouhouche, 2005). Dans ce contexte, nous évoquons les travaux de Louis (2004) sur pois cassé et de Mouhouche (2005) sur l'activité biologique des Albumines entomotoxiques de type 1b des graines de pois chiche.

Sales & al. (2000), ont prouvé l'effet antiappétant des vicilines, légumineuses et des arcelines dans la défense des légumineuses contre *Callosobruchus maculatus*.

Notre travail est essentiellement axé sur la bruche du pois chiche *C. maculatus* F. et vise à déterminer l'effet entomotoxique des lectines présentes au niveau des graines de haricot sur *C. maculatus* F. Notre démarche consiste à :

- Etudier la sensibilité de quelques variétés de haricot aux attaques de *Callosobruchus maculatus* F.
- Etudier par des essais biologiques, l'effet entomotoxique de l'extrait de lectines de la variété du haricot la moins sensible à l'attaque de cet insecte.
- Etudier l'effet de l'extrait de lectines du haricot sur le tube digestif de *C. maculatus*.

Partie I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES SUBSTANCES ENTOMOTOXIQUES DES LEGUMINEUSES

1. les substances entomotoxiques non protéiques

1.1 les composés azotés

Les métabolites secondaires azotés de défense dérivent d'acide aminé protéique ou non.

On distingue les alcaloïdes, les composés cyanogènes, les glycosinolates et les acides aminés non protéiques.

1.1.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont présents dans la vacuole des cellules sous forme de sels et peuvent être extraits par de l'eau acidifiée, de l'éthanol ou par des solvants organiques.

La majorité des alcaloïdes dériveraient des acides aminés tels que le Tryptophane, la Tyrosine, la Lysine, l'Histidine et l'Ornithine (Woolley, 2001).

En plus d'un rôle probable dans le métabolisme de l'azote et son stockage, les alcaloïdes présentent un rôle de défense caractérisé par un effet répulsif ou toxique dans les relations plantes – insectes. Ainsi les alcaloïdes de type indole quinine et strychnine sont répulsifs pour de nombreux insectes.

Les alcaloïdes poly hydroxylés des légumineuses mimant les sucres structurellement, inhibent le métabolisme des sucres et constituent d'efficaces antiappétants pour divers insectes (Fellows & al., 1986). Le 2R, 5R-dihydroxyméthyl-3R, 4R-dihydroxypyrrolidine tue les larves de *Callosobruchus maculatus* à une concentration de seulement 0,03 % en inhibant fortement l'enzyme digestive α -glucosidase (Evans & al., 1985). En plus d'inhiber certaines glycosidases, les alcaloïdes poly hydroxylés interfèrent avec la biosynthèse des glycoprotéines intracellulaires.

1.1.2. les composés cyanogènes

Les composés cyanogènes sont répandus dans les plantes en l'occurrence les légumineuses. La cyanogénèse, formation d'acide cyanhydrique (HCN) libre est associée aux cyanoglucosides et cyanolipides.

En plus d'un rôle probable dans le métabolisme général de l'azote (Hruska, 1988) ; l'acide cyanhydrique, amer, est un antiappétant efficace contre divers insectes (Woodhead & Chapman, 1986).

Par ailleurs, les cyanolipides sont hautement toxiques pour de nombreux insectes dont les bruches (Mikołajczak & al., 1984).

1.1.3. Les glucosinolates

Les glucosinolates sont des composés impliqués dans les relations plantes – insectes (Louda & Mole, 1991). Ils affectent le développement larvaire, la métamorphose et la prise alimentaire de nombreux insectes (Wolfson, 1982). En phase poste ingestion, ces derniers exercent une activité toxique.

1.1.4. Les acides aminés non protéiques

Les acides aminés non protéiques sont présents dans un très grand nombre d'espèces végétales, particulièrement chez les légumineuses. Ils jouent un rôle important dans la défense contre la déprédation (Rosenthal, 1982b) et chaque acide aminé non protéique exerce sa toxicité par divers mécanismes (Rosenthal, 1982a).

Dans les plantes, ces composés se présentent sous forme libre, extractible à l'eau ou à l'éthanol 80 %. Ils peuvent être répartis dans toute la plante mais les concentrations les plus élevées sont observées dans les graines (D'Mello, 1991 ; Rosenthal, 1982a).

1.2 Les terpénoides

Les composés de ce groupe, sont constitués uniquement de carbone, hydrogène et oxygène.

D'un point de vue des relations plantes – insectes, ces composés peuvent accomplir de nombreux rôles parfois contradictoires, ils sont tantôt toxiques ou répulsifs ; tantôt attractifs.

Les monoterpènes constituent la majeure partie des huiles essentielles mais ils sont rares chez les légumineuses. Les fonctions des monoterpènes sont multiples. Certains protègent la plante des déprédateurs, inhibent la multiplication de bactéries et / ou champignons. D'autres inhibent l'oviposition des insectes.

Les triterpènes constituent le principal groupe impliqué dans la défense des végétaux face aux insectes. Le composé clé de la synthèse des triterpènes est le squalène. Parmi ces composés nous citons les saponines. Ces composés tensioactifs très répandus chez les végétaux, sont des glucosides terpéniques ou stéroïdaux.

Les saponines triterpènes sont les plus nombreuses. Elles sont essentiellement présentes chez les dicotylédones tel que le pois chiche et le haricot.

Les saponines stéroïdes sont surtout représentées chez les monocotylédones tel que la lentille.

De ce fait, les saponines s'avèrent toxiques et antiappétants pour de nombreuses espèces d'insectes (Ishaaya & al., 1969). Leur toxicité est due à leur liaison avec les stéroïdes libres du tube digestif réduisant ainsi le taux d'assimilation de ces stéroïdes dans l'hémolymphe ce qui interfère avec le processus de mue (Rahbé & al., 1988).

1.3 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances possédant un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle. Aussi, de très nombreuses données témoignent de leur rôle écologique.

Parmi ces composés, on retrouve les tannins qui se subdivisent en deux groupes à savoir les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Ce sont ces derniers qu'on rencontre dans les graines de légumineuses principalement localisés dans les téguments des graines (Crevieu, 1999).

Ces composés ont une action protectrice contre les attaques des microorganismes en se déposant dans les parois cellulaires. De plus, les tannins ayant la propriété de précipiter les protéines réduiraient la valeur nutritionnelle de certains tissus végétaux. Ils affectent également la digestion des insectes en ce liant aux mucoprotéines de leur cavité orale (Harborne, 1988 ; Crevieu, 1999).

D'autre part, nous avons les quinones qui se combinent aux sucres. Ces composés ont la faculté de complexer irréversiblement les acides aminés de protéines rendus inactifs (Gilbert & Norris, 1968).

Enfin, les isoflavonoïdes, composés très actifs présents chez les légumineuses responsables de la moindre prise alimentaire et de la toxicité envers les lépidoptères nocturnes (Neupane & Norris, 1990).

1.4 Les phytates

Les phytates paraissent être la principale forme du phosphore présent dans les graines de légumineuses (Griffiths, 1982). Ils ont des propriétés chélatantes et forment des complexes avec les minéraux, mais aussi avec les protéines.

Cependant, l'association des protéines avec les phytates dépend de l'accessibilité des acides aminés (O'dell & De Boland, 1976). Ainsi les phytates ont un effet sur la protéolyse, cet effet pourrait être inhibiteur (Knuckles & al., 1989) ou activateur (Deshpand & Damodaran, 1989 b).

2. Les substances entomotoxiques de nature protéique

Les protéines entomotoxiques des légumineuses sont diverses. Nous nous limiterons ici aux principales protéines anti insectes des légumineuses, puis aux principaux peptides (petites protéines de moins de 100 acides aminés) riches en cystéines et impliqués dans la défense des légumineuses.

2.1. Les lectines

Il faut remonter aux années 1888 et 1889, pour que Stillmark décrive pour la première fois les propriétés d'agglutination d'une lectine. A partir d'extraits de graines de ricin (*Ricinus communis* L.).

Selon Kocourek (1986); les lectines sont des protéines (ou des glycoprotéines) d'origine non immune capables de reconnaître spécifiquement les sucres terminaux de glycoprotéines et d'autres glycoconjugués et de s'y lier avec une haute affinité de manière réversible sans altérer la structure covalente d'aucun des résidus (ligands) glycosyl reconnus.

Les lectines de légumineuses sont connues pour leur pauvreté en acides aminés soufrés (Sharon & Lis, 1990) et ne développent aucune activité enzymatique en vers le sucre lié (Hamelryck & al., 1996). Leur affinité pour les sucres est modérée avec les simples monosaccharides et plus élevée avec les sucres plus complexes (Yamamoto & al., 2000a). De ce fait, les lectines sont utilisées comme des indicateurs dans l'analyse des hydrates de carbones et des glycoprotéines (Yamamoto, 1994).

Les lectines se ressemblent dans leurs propriétés physico-chimiques (Yamamoto & al., 1992) bien qu'elle diffèrent dans leur spécificité à lier les sucres (Chrispeels & Raikhel, 1991 ; Hirabayashi, 1997).

La structure globale des lectines de légumineuses montre que ces dernières se composent de deux ou quatre sous unités comprenant chacune un emplacement liant un hydrate de carbone (Yamamoto & al., 2000 b), avec une masse moléculaire relative à 30 KDa. Ainsi, L'agglutinine d'*Urtica dioica* L. (Utida, 1954), la lectine la plus petite isolée à ce jour, a une masse moléculaire de l'ordre de 8 à 9 KDa. (Broekaert & al., 1989) alors que celle de l'une des lectines isolées de *Phaseolus lunatus* L. est de 245 KDa.

La spécificité osidique des lectines se définit en terme de concentration minimale de monosaccharides nécessaires pour inhiber l'agglutination ou la réaction de précipitation des cellules animales induite par ces molécules (Goldstein & Hayes, 1978 ; Goldstein & Portez, 1986).

Les propriétés biologiques des lectines sont décrites en détail par Lis & Sharon (1986). La réaction d'agglutination est sous la dépendance de nombreux facteurs tels que les propriétés moléculaires des lectines (nombre de sites de fixation aux sucres, masse moléculaire), les caractéristiques de la surface cellulaire (nombre et accessibilité des sites de fixation, fluidité de la membrane cellulaire) et l'état physiologique des cellules.

La réaction d'agglutination de cellule est la manifestation la plus facile à observer et représente le résultat d'une interaction spécifique entre la lectine et un sucre présent à la surface de celle-ci.

La phytohemagglutinine, la lectine du haricot commun (*Phaseolus vulgaris*), est en particulier une lectine mitogène qui provoquerait une transformation des cellules après connaissance d'un récepteur spécifique à sa surface.

Toutes les lectines de légumineuses possèdent deux ions métalliques « un ion calcium Ca^{2+} et un ion de manganèse Mn^{2+} » par monomère à proximité du récepteur de sucre (Hamelryck & al., 1996).

Cependant, l'un des dispositifs les plus propres aux lectines de légumineuses est leur variable structure quaternaire. En effet, bien que les structures de leurs monomères soient fortement similaires, elles peuvent s'associer en tétramères et dimères.

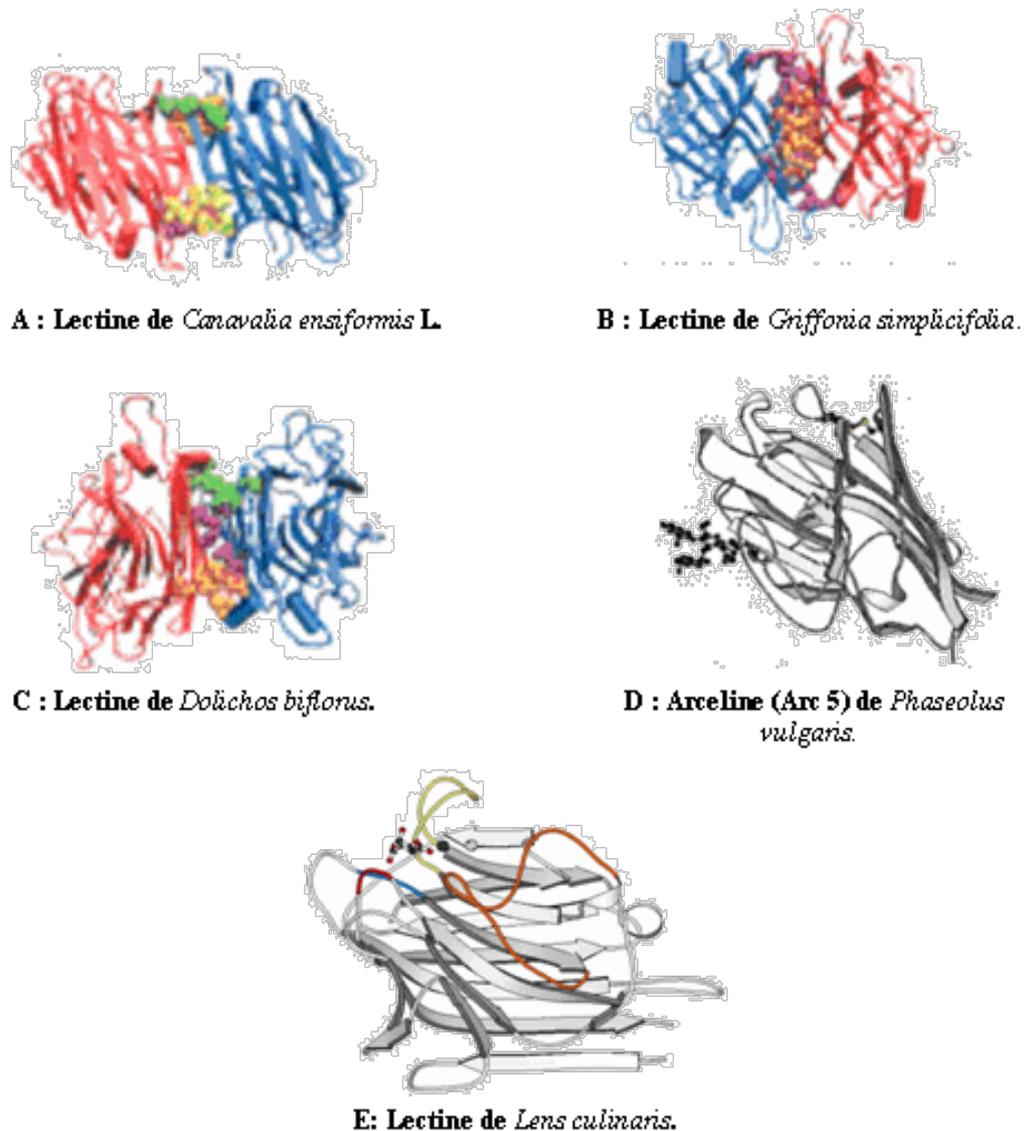


Figure 1 : Schéma représentatif de la structure globale de certaines lectines de Légumineuses. A, B, C (Brinda, 2004) D, E (Hamelryck & al., 1996)

Actuellement, quatre différents types de tétramères et trois différents types de dimères ont été identifiés (Hirabayashi, 1997) et plus de 70 lectines de différentes graines de diverses légumineuses ont été identifiées (Chrispeels & Raikhel, 1991 ; Yamamoto & al., 2000 a) dont 10 ont été résolues et raffinées Fig1.

De nombreuses fonctions des lectines dans la plante sont évoquées entre autre : fonction dans l'élongation des parois cellulaires ; fonction de co-facteurs enzymatiques agissant avec des enzymes glycoprotéiques, intervention dans le transport des glucides et dans leur mise en réserve dans les graines, contrôle de la division cellulaire et de la germination, intervention dans les processus de reconnaissance de cellule à cellule (Etzler, 1986 ; Kaminski & al., 1987 ; Chrispeels & Raikhel, 1991 ; Louis, 2004).

En nutrition, Les lectines de légumineuses font partie du régime alimentaire de l'homme. Ces dernières sont étonnamment résistantes à la dégradation protéolytique pendant leur passage dans l'intestin (Bardocz & Pustai, 2004).

De ce fait, les lectines avant d'être ingérées, doivent être dénaturées par la cuisson à une température de 80°C pendant 10 à 20 minutes (Grant & al., 1982 ; Liener, 1986) car ces glycoprotéines perturbent le fonctionnement des cellules épithéliales intestinales (Loris, 1999 ; Goossens & al., 2000 ; Sales & al., 2000 ; Louis, 2004).

2.1.1. Les hemilectines et protéines inhibitrices de ribosome (PIR)

Ces protéines, contrairement aux lectines typiques multivalentes sont désignées comme hemilectines (Carlini & Guimaraes, 1991) ou chimerolectines (Peumans & Van Damme, 1995). Elles sont composées de deux chaînes polypeptidiques aux propriétés distinctes. L'haptomère ou chaîne β (Binding) interagit avec un sucre ou composé glycosylé de la membrane cellulaire. L'héfectomère ou sous unité A est l'agent toxique à activité enzymatique. Après internalisation, la protéine est activée par une protéolyse limitée entraînant la séparation des deux chaînes. L'héfectomère activé traverse la membrane de la vésicule golgienne et agit sur les constituants du cytoplasme provoquant les effets toxiques envers les insectes (Montecucco, 1998 ; Olsnes & al., 1999).

<i>protéines</i>	<i>Ordres d'insectes</i>					
	<i>Coléoptères</i>	<i>lépidoptères</i>	<i>homoptères</i>	<i>hémiptères</i>	<i>Orthoptères</i>	<i>diptères</i>
<i>Lectines</i>						
<i>Mannose (Man)</i>	Toxique	Toxique	Toxique	-	-	-
<i>•N-acétyl - glucosamine (GlcNAc)</i>	Toxique	Toxique	Toxique	-	-	-
<i>•N-acétyl-glucosamine galactosamine (GlcNAc/ Gal)</i>	Toxique	Toxique	Toxique	-	-	-
<i>•Protéines inhibitrices de ribosomes (PIR)</i>	Toxique	Pas d'effet	-	-	Pas d'effet	Pas d'effet
<i>•Arcélines (Arc)</i>	Toxique	-	-	-	-	-
<i>•Inhibiteurs de protéase serine (IP à serine)</i>	Toxique	Toxique	Pas d'effet	Pas d'effet	Toxique	-
<i>•Cystatines</i>	Toxique	Pas d'effet	Pas d'effet	Toxique	-	-
<i>•Inhibiteur d'alpha amylase (IA)</i>	Toxique	Toxique	Pas d'effet	-	-	-

Tableau 1 : Toxicité des lectines de légumineuses sur les différents ordres d'insectes Carlini & Grossi de Sa (2002).

Ces composés sont toxiques pour de nombreuses espèces d'insectes. En effet, ils inhibent la synthèse protéique par les ribosomes cellulaires chez les insectes.

2.1.2. Les arcélines :

Les protéines de stockage sont des globulines insolubles dans l'eau et sont présentes dans les graines de légumineuses (Shewry & al., 1995) Fig1.

Les arcélines sont des protéines insecticides (Louis, 2004) propres aux graines stockées (Goossens & al., 2000). Ce sont des isolectines caractérisées par une faible propriété agglutinante (Hamelryck & al., 1996). En revanche, une stabilité biochimique élevée est démontrée (Goossens & al., 2000).

Auparavant, ces glycoprotéines étaient considérées comme des protéines typiques aux variétés sauvages du haricot.

Actuellement, il s'est avéré que ces protéines sont présentes au niveau de plusieurs variétés du genre *Phaseolus* (Mirkov & al., 1994).

Les arcélines constituent des formes tronquées de phytohemagglutinines (Loris, 1999 ; Shih- chieh & al., 2002).

A leur niveau, la boucle obligatoire pour l'attache des ions métalliques est supprimée (Hamelryck & al, 1996 ; Mourey & al., 1998).

Par conséquent, ces protéines de défense ne lient pas les sucres simples (Loris, 1999 ; Louis, 2004) mais on relève la présence de chaînes complexes d'oligosaccharides au niveau du N- Terminal liant les glycanes (Young & al., 1999).

Cependant, le mécanisme de toxicité des arcélines envers les insectes n'est pas clairement élucidé. Osborne et ses associés (1988), les estiment toxiques alors que Minney et ses collaborateurs (1990) les considèrent comme inhibiteurs de la digestion. Toutefois, leurs propriétés insecticides pourraient être liées à leur interaction avec les glycoprotéines ou autres composants du tube digestif (Cordeiro & al., 2000).

Jusqu'ici sept variants alléliques ont été identifiés (Osborn & al., 1986 ; Lioi & Bollini, 1989 ; Santino & al., 1991 ; Acostagallegos & al., 1998) de masses moléculaires allant de 30 à 42 Kda (Acostagallegos & al., 1998).

Les membres de cette famille ont une structure tertiaire semblable, mais leurs propriétés biologiques, leur structure quaternaire et leur spécificité sont différentes. Elles existent sous forme de dimères 'Arc 2', tétramère 'Arc3 et 4' ou les deux 'Arc1'. Arc5 a été observé sous forme de dimère en solution et de monomère en cristal.

Les variants Arc1 et Arc5 semblent être les plus prometteurs pour fournir des lignées résistantes contre les bruches (Cardona & al., 1990 ; Kornegay & al., 1993 ; Goossens & al., 1994 ; Fory & al., 1996 ; Loris, 1999).

Les niveaux de résistance sont maintenus dans les lignées issues des croisements avec les parents Arc1 ou Arc5.

Toutefois, chaque variant est en réalité représenté par plusieurs polypeptides spécifiés par différents gènes (Hartweck & al., 1991) et il n'est pas clair que ces diverses isoformes aient la même efficacité contre les ravageurs (Goossens & al., 2000).

2.2. Canatoxine et uréase

Les graines de *Canavalia ensiformis* contiennent non seulement la lectine concanavaline A, mais également de l'uréase ainsi que la protéine canatoxine, un puissant neurotoxique.

Cette dernière représente 0,5% du poids sec de la graine. Elle agit comme une hémilectine mais en interagissant avec des glycoconjugués plus complexes comme les gangliosides (Carlini & Guimaraes, 1981).

La canatoxine présente une forte homologie de séquence avec l'uréase des mêmes graines et ne possède que 30% de l'activité uréolytique de l'uréase. L'uréase présente également certaines propriétés biologiques de la canatoxine, comme la toxicité sur les insectes, l'activité hémilectine ou encore l'activation des plaquettes du sang (Follmer & al., 2001).

Les homologues de la canatoxine sont très bien répartis au sein des légumineuses, et même chez les espèces comestibles (Carlini & al., 1988).

Parallèlement, la canatoxine est mortelle par ingestion pour l'espèce *Callosobruchus maculatus* (Carlini & al., 1997).

2.3. Les inhibiteurs enzymatiques

La présence des inhibiteurs d'enzymes provoque un dérèglement du métabolisme de l'organisme concerné. Le dérèglement peut entraîner un retard de croissance, de développement voire la mort des individus.

En plus de l'intérêt de leur étude pour la nutrition et la toxicologie alimentaire, les inhibiteurs d'enzymes sont des outils potentiellement importants pour la protection des végétaux.

2.3.1. Les inhibiteurs de protéases (IP)

Les protéases sont les enzymes responsables de la dégradation des protéines. Les endoprotéases sont classés en quatre groupes à savoir :

- Les protéases à sérines.
- Les protéases à cystéines.
- Les protéases acides.
- Les métalloprotéases

. Par ailleurs, les inhibiteurs de protéases sont classés par rapport au type de protéase qu'ils inhibent.

a. Les inhibiteurs de protéases à sérines

Une classification de ces inhibiteurs en fonction du mécanisme d'inhibition, permet de distinguer trois principaux groupes (Laskowski & Kato, 1980) dont les inhibiteurs canoniques sont les seuls présents chez les végétaux.

Richardson (1991), a défini sept familles d'IP à sérine. Les deux familles les plus connues sont les inhibiteurs de la famille BOWAN-Birk ayant deux sites actifs (Birk, 1976) et de la famille Kunitz.

Ces derniers d'environ 20KDa, possédant un seul site actif et renfermant deux ponts disulfures.

Certains inhibiteurs de protéases à sérines sont bifonctionnels, agissant également sur des α -amylases.

b. Les inhibiteurs de protéases à cystéine

Les inhibiteurs de protéases à cystéine de plantes phycocystatines ont la particularité de ne pas posséder de ponts disulfures (Nagata & al., 2000).

Les phycocystatines présentes dans diverses mono et dicotylédones, ont une masse moléculaire de 5 à 87 KDa.

c. Les inhibiteurs de métalloprotéases et de protéases acides

A ce jour, très peu d'inhibiteurs de métalloprotéases ou de protéases acides sont connus. Ainsi, un inhibiteur de protéase acide a été caractérisé chez la courge (Christeller & al., 1998). Cet inhibiteur de protéase est capable d'inhiber une protéase acide synthétisée par un champignon pathogène des cucurbitacées, suggérant un rôle possible dans la défense de la plante contre les pathogènes.

2.3.2. Les inhibiteurs d'alpha amylases (IA)

Les alpha amylases sont les enzymes digestives principales de nombreux insectes se nourrissant exclusivement de graines durant leur vie larvaire et / ou imaginaire.

Les inhibiteurs d' α -amylases (IA) protéiques font partie des mécanismes de défense de nombreuses plantes et sont particulièrement abondants dans les céréales (Abe & al., 1993 ; Feng & al., 1996 ; Yamagata & al., 1998 ; Iulck & al., 2000) et les légumineuses (Giri & Kachole, 1998 ; Melo & al., 1999).

Les inhibiteurs d'alpha amylases sont des inhibiteurs d'amylase présents chez différentes variétés du genre *Phaseolus*. Les lectines phytohemagglutinines, les inhibiteurs d'alphas amylases et les arcélines constituent une famille de protéines de défense des graines de *Phaseolus*.

Ces inhibiteurs sont toxiques pour divers insectes ravageurs (Grossi De Sa & al., 1997). Ainsi, le pois transgénique exprimant l'inhibiteur d'alpha amylase présente une résistance totale aux bruches.

2.4. Les peptides de défense

Les peptides de défense des plantes sont très nombreux et variés, ici nous nous limitons à présenter les principales familles structurales de peptides insecticides. Ils sont sans activité enzymatique (Boman, 1995) et de structure riche en cystéine formant des ponts disulfures qui les rendent compact et stables.

2.4.1. Chitinases et protéines affines de la chitine

La chitine est un composant structural essentiel des parois cellulaires fongiques, de la cuticule des insectes et de l'enveloppe des œufs de nématodes. De ce fait, elle constitue une cible spécifique de grand intérêt pour le développement des pesticides.

Les lectines de spécificité Glc NAc interfèrent avec la synthèse de la chitine des insectes (Cohen, 1993).

Les vicilines de légumineuses lient les structures à base de chitine dont celle du tube digestif de *Callosobruchus maculatus* et *Zabrotes subfasciatus* (Firmino & al., 1996) et les parois et membranes cellulaires des levures et champignons (Gomes & al., 1998).

D'autres protéines s'attaquent à la chitine en l'hydrolysant. Ce sont les chitinases. Toutes les plantes en possèdent et les expriment dans les tissus les plus vulnérables ou en réponse à une attaque de pathogènes, en tant que protéine PR (Pathogenesis Related) (Collinge & al., 1993 ; Samac & Shah, 1991).

Les produits de la dégradation de la chitine induisent la production de composés de défense ou Phytoalexines (Brunner & al., 1998).

2.4.2. Les thionines

Les thionines appelées ainsi à cause de leur riche teneur en soufre (Balls & al., 1942) sont des peptides de 45 – 47 acides aminés avec trois ou quatre ponts disulfures. Leur structure tridimensionnelle ressemble à la lettre grecque tau Γ (Clore & al., 1986).

Les thionines sont cytotoxiques pour les cellules des insectes.

2.4.3. Les défensines

Les défensines des plantes sont des peptides de 45 – 54 acides aminées (environ 6KDa) (Fossdal & al., 2003). Elles possèdent des activités biologiques diverses et sont divisées en quatre groupes d'après leur activité antimicrobienne.

Selon Chen & al. (2002) ; une nouvelle défensine de *Vigna radiata* a été caractérisée pour son activité entomotoxique contre les bruches. Ainsi, des graines artificielles contenant 0,2 % du peptide s'avère mortelles pour les larves de *Callosobruchus maculatus* (Thomma & al., 2002).

2.4.4. Les knottines

Ces peptides possèdent de 26 à 48 résidus dont six cystéines formant trois ponts disulfures.

Les knottines animales bloquent les canaux tandis que les peptides végétaux agissent sur les enzymes. L'activité insecticide d'une knottine a été caractérisée. Il s'agit de l'albumine PA1b du pois toxique pour les charançons des céréales (Delobel & Grenier, 1999).

2.4.5. Les protéines de transfert de lipides (LTP)

Plusieurs protéines non spécifiques de transfert de lipides (nsLTP) ont été identifiées dans environ 60 espèces. On distingue deux sous familles. Celle de type I comporte 90 à 95 acides aminés. Les LTP du type 2 sont constituées de 70 acides aminés (Kader, 1996).

Les deux types de nsLTP sont considérés comme des peptides de défense des plantes de part leur expression induite par des stress tant abiotiques que biotiques (Gomes & al., 2003 ; Yubero-Serrano & al., 2003) comme l'activité antibactérienne et antifongique (Douliez & al., 2000).

CHAPITRE II: SYNTHÈSE DES DONNÉES SUR LE HARICOT COMMUN *Phaseolus vulgaris*

1. Origine et historique

L'origine américaine du haricot n'est plus contestée (Hopquin, 1994, Anonyme, 2005). Le pro géniteur de l'espèce *Phaseolus vulgaris* serait une forme de *Phaseolus aboriginus*, une liane tropicale (Hopquin, 1997), autogame, à gousses déhiscentes et à petites graines non dormantes.

Le haricot était déjà domestiqué au Pérou et au Mexique il y a environ 7000 ans (Anonyme, 2007a ; Anonyme, 2007b ; Hopquin, 1997). Son nom viendrait de l'appellation aztèque « aya colt » (Anonyme, 2004, Anonyme, 2007d).

Selon Capelle (2003), les deux principaux centres de haricot sauvage sont les centres méso- américains et sud andins. Les populations sont situées entre 500 et 2500 mètre d'altitude.

En 1542, le botaniste Fuchs décrira la plante avec précision (Anonyme, 2004). Son introduction en Europe est due à C. colombe. Il apparaît officiellement en France en 1553, puis se répand dans tout le bassin méditerranéen (Hopquin, 1998 ; Hopquin, 1997).

A la fin du XVIII^e. Siècle, les Italiens du sud commencent à consommer le haricot à l'état de gousses tendres, encore immatures (Anonyme, 2004 ; Anonyme, 2005).

Les français découvrent ce mode d'utilisation en Algérie (Hopquin, 1998).

Au cours des dix dernières années, la production mondiale de haricots secs a fluctué, mais la tendance est légèrement à la hausse. Pendant cette période, la production a varié d'un creux de 16 millions de tonnes (Mt) en 2002-2003 à un sommet de 19,2 Mt en 2005-2006.

2. Importance économique du haricot

2.1 Dans le monde

La production mondiale de haricots est estimée à 25,7 millions de tonnes (F.A.O, 2006).

Soixante quinze pour cent de la production mondiale de haricots secs est attribuable aux dix principaux pays producteurs, soit l'Inde, le Brésil, les Etats-Unis, la Chine, Myanmar, le Mexique, l'Indonésie, l'Argentine, l'Ouganda et le Canada (Fig2).

2.2. En Algérie

Au cours de la dernière décennie, La production algérienne du haricot est concentrée au niveau des hauts plateaux. Cette première a connu beaucoup de fluctuations malgré les programmes subventionnés par l'Etat.

En effet, on enregistre une hausse prononcée en 2001, atteignant 10790 qx, un sommet pour la décennie.

En 2003, la production a chuté à 4190 qx Elle a ensuite augmenté considérablement, pour passer à 10960 qx en 2006 (Fig3).

Le rendement des cultures de haricot sec a varié au cours de la période 1993 – 2006. Il a atteint 8.67 qx / ha en 1993. Il a ensuite reculé légèrement pour passer à 7, 73 qx / ha en 1995. En 2003, le rendement a chuté à 3,27 qx / ha.

Pour 2006, le rendement a considérablement augmenté atteignant ainsi 7,02 qx / ha en raison d'une augmentation de la superficie ensemencée (Fig4). « MAP : Ministère de l'agriculture et de la pêche, 2006 ».

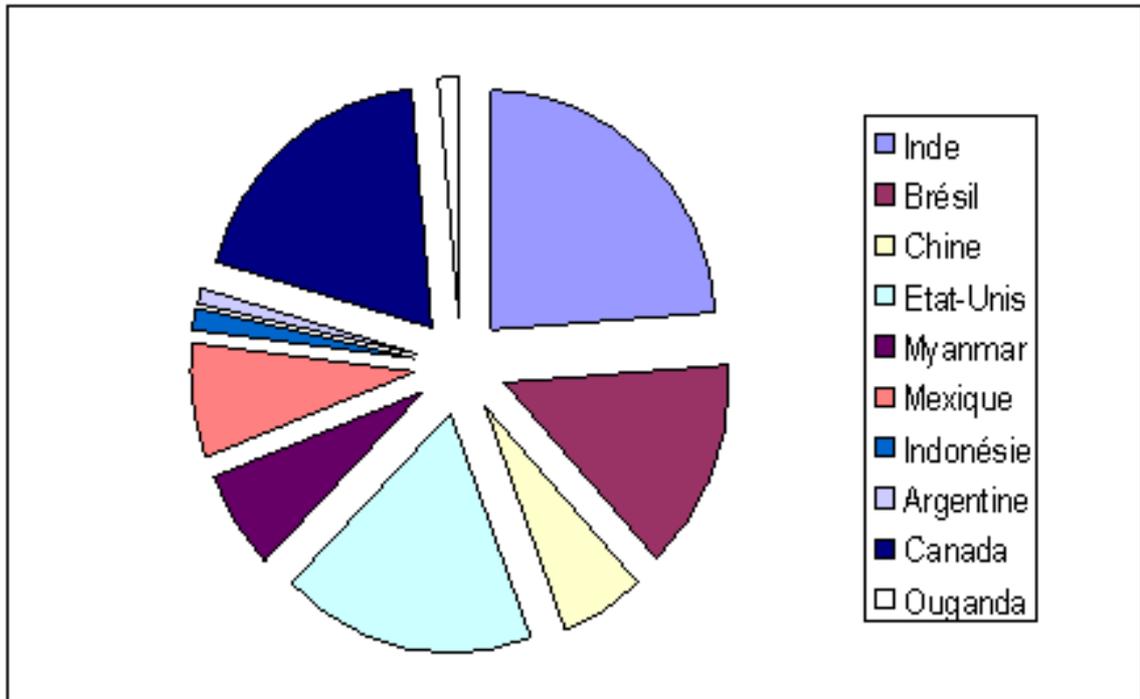


Figure 2 : La production mondiale des haricots secs durant l'année 2006 (FAO, 2006).

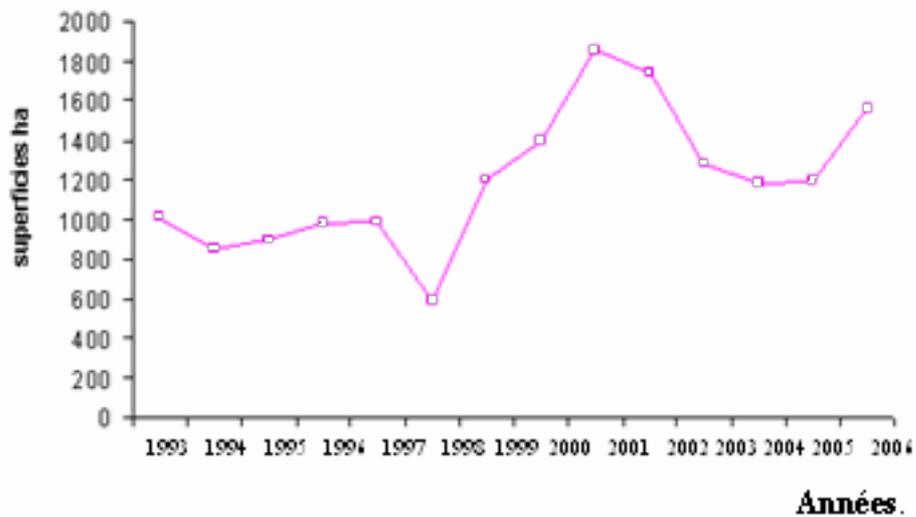


Figure 3 : Evolution des superficies de la culture de haricot en Algérie entre 1993 et 2006. MAP (2006)

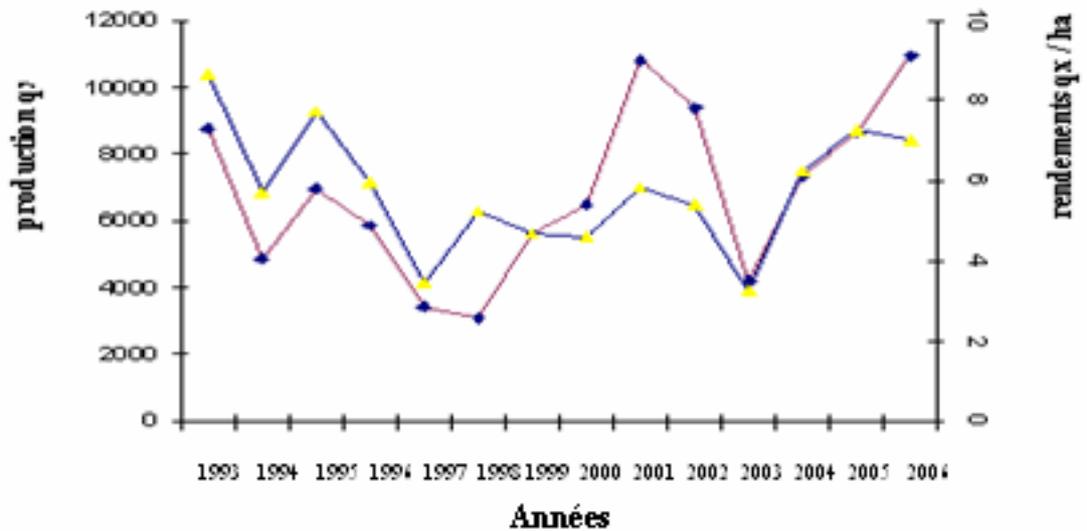


Figure 4 : Evolution de la production et des rendements de la culture de haricot en Algérie entre 1993 et 2006 (MAP, 2006).

3. Variabilité génétique

Le haricot commun *P. vulgaris* L. est une légumineuse appartenant à la tribu des *Phaseolae* comme *Vigna* ou *Glycine*.

Deboucq (1988), recense 56 espèces dans le genre *Phaseolus*.

Dans toute la tribu, le nombre chromosomique est de $2n = 22$, sauf une espèce à $2n = 20$ (Hopquin, 1997).

Chez *Phaseolus vulgaris*, la variabilité génétique est extrêmement importante. Elle se caractérise par le port des plantes, la forme, la taille, la couleur des graines, des fleurs et des gousses et bien d'autres traits morphologiques ou physiologiques.

4. Composition biochimique globale des graines de haricot

Soltner (1990), estime que les protéines végétales coûtent deux fois moins chères que les protéines animales.

De ce fait, ce sont les légumineuses qui sont les plus prometteuses pour produire l'immense complément de protéines végétales dont le monde a besoin dans le futur immédiat (Labeyrie, 2005).

La composition biochimique globale des graines de haricot (Tab. 2) montre que cette légumineuse constitue une excellente source de protéines alimentaires (20 – 30 %) ; en plus d'être riche en fibres et en glucides complexes pour les pays en développement.

Tableau 2: Composition biochimique (g/100g de graines) et valeur énergétique (Calories / 100g) des graines de *Phaseolus vulgaris* (Iserin, 1997).

Légumineuses	Protéines	lipides	glucides	fibres	Matière minérale	eau	calorie
Phaseolus vulgaris	20-27	1-2	60-65	4-5	4-5	11	341

Compte tenu de la teneur protéique et de la qualité des protéines des haricots. Ces derniers peuvent servir d'allongeur ou de substituts pour la viande.

4.1. Composition en acides aminés indispensables

En plus de leur forte teneur en protéines, les graines de haricot renferment les 24 acides aminés indispensables à l'alimentation humaine (Tab.3). Ceci rend les légumineuses indispensables pour équilibrer l'alimentation céréalière (Appert, 1992 ; Mourey, 2004).

Tableau 3: Composition (mg/g) en acides aminés essentiels des protéines de haricot (Hojjati, 1976).

Acides aminés	Arg	Cys	Iso	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Try	Val
Phaseolus vulgaris	0,0	1,9	4,2	7,6	7,2	0,0	7,7	4,0	0,5	4,6

L'ensemble des valeurs résumées dans le tableau ci-dessus, montrent que le haricot commun *Phaseolus vulgaris* est riche en Phe, Leu et en Lys avec des valeurs respectives de 7,7 ; 7,6 et 7,2 mg/ g . Aussi, on remarque l'absence de la méthionine et de l'arginine.

4.2. Principales protéines de réserve de la graine de *Phaseolus vulgaris*

Les plantes ont su au cours de leur évolution s'équiper de tout un arsenal leur permettant de se défendre contre les pathogènes environnants. En cas de stress d'ordre physique, chimique ou biologique ; les plantes synthétisent un certain nombre de protéines au niveau du péricarpe regroupées sous le nom générique de « Pathogenesis- Related » ou PR. (Catala, 1998 ; Goossens & al., 2000 ; Rougé & al., 2004).

Plusieurs auteurs soulignent que les protéines de défense typiques aux graines de haricot commun *Phaseolus vulgaris* sont essentiellement représentées par : phytohemagglutinine, la phaseoline, les arcélines (Hamelryck & al., 1996 ; Lioi et al., 2003) et les alpha amylases inhibiteurs (Rougé & al., 2004).

4.2.1. La phaseoline

La phaseoline est une globuline de stockage et constitue la fraction protéique la plus importante du haricot. Cette fraction correspond à la protéine majeure 7S par son coefficient de sédimentation (Rougé & al., 2004).

Cette protéine est à chaîne unique, dépourvue de ponts disulfure (Mosse & Pernollet, 1982 ; Rougé & al., 2004).

Par ailleurs, l'agrégation des phaseolines forme des trimères de sous unités dont la masse moléculaire varie entre 45 et 53 daltons (Shewry & al., 1995). Ces trimères peuvent être identiques ou non, plus ou moins modifiés par des protéolyses post- traductionnelles et/ ou des glycosylations (Crevieu, 1999).

La phaseoline est codée par un grand nombre de gènes (Shewry & al., 1995).

4.2.2 Les phytohemagglutinines

La phytohemagglutinine est la première protéine pour laquelle on a attribué des propriétés insecticides (Rougé & al. 2004).

Cette leuco agglutinine des graines de *Phaseolus vulgaris* (Hamelryck & al., 1996) se lie aux glycanes de la muqueuse intestinale des mammifères et agit comme un mitogène (Higgins & al., 1998). Cette protéine comprend deux formes différentes :

a) Les vraies lectines

Les lectines de défense sont des antinutritionnels de nature protéique propres aux graines de légumineuses, en l'occurrence celles du haricot commun. Ces lectines sont élaborées au cours de la germination (Prabu & al., 1998) et jouent un rôle important dans la protection des graines contre les ravageurs, en contribution avec les lectines tronquées (Stamopoulos & Huignard, 1980).

Selon Kigel, (1999), cette protéine entomotoxique représente 10% de la teneur en protéines. Elle semble être fortement liée aux membranes des corps protéiques (Pusztai & al., 1979).

Cette lectine a la faculté de se fixer sur la muqueuse intestinale de nombreuses espèces et empêche ainsi le développement normal des microvillosités. Il s'en suit des difficultés d'absorption des nutriments qui se traduisent par une perte de poids, un retard de croissance et de développement (Grant, 1991).

- Phytohemagglutinine - L

La phytohemagglutinine –L est une lectine leuco agglutinine propre aux graines de *Phaseolus vulgaris* L. dont le poids moléculaire est de 34.000 Da. (Hamelryck & al., 1996).

- Phytohemagglutinine- E

La phytohemagglutinine comme son nom l'indique, est une lectine de poids moléculaire de 36.000 Da pouvant agglutiner les érythrocytes du sang (Loris, 1999).

b) Les lectines tronquées

Dans les formes tronquées de phytohemagglutinine, nous retrouvons l'arceline et

L'inhibiteur de l'alpha amylase ou respectivement, une et deux boucles jouant un rôle obligatoire dans la liaison des sucres sont absentes.

- Inhibiteur d'alpha amylase

Les polypeptides de l'inhibiteur de l'alpha amylase sont constitués de 244 acides aminés. Ces derniers sont identiques à 43 % aux lectines du haricot nain et à 55 % à l'arceline du haricot sauvage (Lee & al., 2002).

Selon Wato & al. (2000), il existe deux types d'inhibiteurs d'alpha amylase, le premier est un complexe tetramérique formé de deux sous unités α et β appelé inhibiteur alpha amylase à chaleur stable ' α AI-s' alors que le second est constitué de trois sous unités α , β et λ appelé inhibiteur alpha amylase à chaleur labile ' α AI-u'. Ce dernier correspond à une sous unité de la protéine arceline.

Chez *Phaseolus vulgaris*, ces inhibiteurs de l'alpha amylase empêchent le développement des larves de *Callosobruchus maculatus* F. (Shih- chieh & al., 2002 ; Santimone & al., 2004).

Arceline

Des comparaisons de séquences de plusieurs légumineuses montrent que les arcélines du haricot commun appartiennent à la famille des protéines « type lectine » qui comporte les

deux types de sous unités des phytohémagglutinines PHA- L et PHA- E et les inhibiteurs d'alpha amylases (Chrispeels & Raikhel, 1991).

Les arcélines sont des protéines de réserve assez abondantes au niveau des génotypes de *Phaseolus vulgaris* L. (Zambre & al., 2005). Ce sont des isolectines caractérisées par une faible propriété agglutinante (Hamelryck & al., 1996). En revanche, leur stabilité biochimique est élevée (Goossens & al., 2000).

L'arcéline présente une forme intermédiaire de l'inhibiteur alpha amylase (Sparvoli & al., 2001). Auparavant, ces glycoprotéines étaient considérées comme des protéines typiques aux variétés sauvages du haricot.

Actuellement, il s'est avéré que ces protéines sont présentes au niveau de plusieurs variétés du genre *Phaseolus* (Mirkov & al., 1994) et constituent des formes tronquées de phytohemagglutinines (Loris, 1999 ; Shih- chieh & al., 2002).

Smartt (1970), a cité plusieurs exemples de croisements interspécifiques dans le genre *Phaseolus*. Les croisements interspécifiques entre *P. vulgaris* et les autres espèces sont difficiles à réaliser et n'ont été que peu utilisées en sélection (Higgins & al., 1998).

5. Intérêt médical

Des recherches médicales montrent que les haricots secs offrent des aliments riches en éléments nutritifs. En effet, une portion de 1/3 de tasse de haricots secs cuits fournit environ 80 calories et beaucoup de glucides complexes ; les haricots offrent toutefois une valeur d'indice glycémique faible. Autrement dit, les glucides des haricots ne provoquent pas une augmentation aussi rapide du taux de sucre dans le sang que plusieurs autres aliments riches en glucides.

Les haricots sont également une bonne source de vitamines B, y compris l'acide folique. Les haricots fournissent aussi les minéraux suivants : le fer, le potassium, le sélénium, le magnésium et même un peu de calcium. Les haricots secs sont aussi de bonnes sources de fibres insolubles, ce qui favorise la santé de l'appareil digestif et soulage la constipation. Les haricots fournissent également des fibres solubles, ce qui peut contribuer à réduire le niveau de lipides dans le sang.

Les haricots ne contiennent que de très peu de gras et pas de cholestérol du tout. (Anonyme, 2007b).

Cependant, les haricots insuffisamment cuits sont toxiques pour l'homme du à la présence de certains facteurs antinutritionnels (Loris, 1999).

CHAPITRE III: DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA BIOECOLOGIE DE *Callosobruchus maculatus* L. ET LES MOYENS DE LUTTE.

1. Aperçu bioécologique sur *Callosobruchus maculatus* F.

1.1. Caractères généraux de la famille des bruchidae

Les bruchidae forment une famille assez homogène parmi les phytophaga. Ces derniers sont de forme ovale légèrement tronquée aux deux extrémités, leur taille varie entre 1.3 et 5 mm. (Balachowsky, 1962 ; Southgate, 1983).

Cependant, les coléoptères bruchidae, dont les larves ne consomment et ne se développent que dans les graines (Caswell, 1961), ont été l'une des très rare familles à avoir coloniser les graines mures des légumineuses.

Par suite de la spécificité des lectines des différentes espèces de légumineuses, les larves d'une espèce de bruches ne consomment généralement que les graines d'une espèce déterminée d'une plante (Janzen, 1977 ; Sales et al., 2000). Ainsi l'éthologie de nombreuses espèces de bruchidae est différente et leur comportement permet de les classer en deux groupes (Delobel & Tran, 1993).

Le premier renferme les bruches univoltines se développant au champ dans les graines vertes tels que la bruche du pois *Bruchus pisorum*, la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* ou la bruche de la lentille *Bruchus lentis* .

Le deuxième groupe renferme les espèces de bruches polyvoltines qui évoluent à l'intérieur des entrepôts de stockage, dans les graines murs ou sèches, c'est le cas de *Callosobruchus maculatus* (la bruche du pois chiche), *C. chinensis* (la bruche chinoise) ; *Acanthoscelides obtectus* (la bruche du haricot) ; *Caryedon serratus* (la bruche de l'arachide).

1.2. Origine et répartition géographique

L'espèce *Callosobruchus maculatus* est originaire d'Asie et d'Afrique (Southgate, 1978) ; à affinité climatique tropicale et subtropicale (Lepesme, 1944 ; Fleurat lessard, 1980).

Cette espèce est devenue un ravageur cosmopolite avec l'accroissement du trafic international (Ridet, 1992) des graines de légumineuses dans de nombreuses régions subsahariennes de l'Afrique de l'ouest (Fleurat lessard, 1980 ; Caswell, 1981).

1.3. Position systématique

L'espèce *Callosobruchus maculatus*, appelée communément la bruche de pois chiche est un déprédateur des grains de légumineuses appartenant à :

- Embranchement : Arthropodes.
- Sous embranchement : pterygotes.
- Classe : Insectes.
- Section : Néoptères.
- Sous section : Néoptères endoptérygogènes.
- Ordre : Coléoptères.
- Sous ordre : Phytophaga.
- Super famille : *Phytophagoidea*.
- Famille : *Bruchidae*.
- Sous famille : *Bruchinae*.
- Genre : *Callosobruchus*.
- Espèce : *Callosobruchus maculatus*.

(Balaschowvsky, 1962)

1.4. Description

1.4.1. Les œufs

Les œufs de *Callosobruchus maculatus* F. sont asymétriques, arrondis à la base, sub-conique à l'extrémité. Fraîchement pondus, ces œufs sont de couleur jaunâtre et translucide ; ils deviennent ensuite blanc opaque à maturité. Ils mesurent 0,4 × 0,7 mm de long sur 0,3 × 0,45 mm de large. Ils adhèrent aux graines par un liquide adhésif qui se solidifie au contact de l'air (Fig5)

1.4.2. Les larves

Les larves néonates sont de type chrysomélien. Elles sont visibles par transparence à travers le chorion de l'œuf. Le développement larvaire se déroule entièrement à l'intérieur du grain.

Pour pénétrer dans la graine, la larve s'appuie sur la face interne du chorion puis creuse sa galerie. Au moment de la pénétration, elle rejette en arrière de la poudre de grain qui s'accumule sous le chorion de l'œuf qui devient opaque (Kellouche, 2005).

Southgate (1983), démontre que les larves de *Callosobruchus* F. n'ingèrent pas les matériaux enlevés pour pénétrer l'enveloppe de la graine, mais les râpent et les poussent de côté sans les faire passer par leur tube digestif.

1.4.3. Les nymphes

La nymphose a lieu le plus souvent à l'intérieur même des graines attaquées, dans une petite loge aménagée sous l'épiderme de la graine. Avant de se nymphoser, la larve découpe avec ses mandibules, d'une manière circulaire l'épiderme de la graine. L'adulte soulève cet opercule pour se libérer.

1.4.4. Les adultes

L'adulte de *Callosobruchus maculatus* mesure 2.8 à 3.5 mm de long et est de forme courte ; ramassée et globuleuse.

La tête est noire, les antennes et le pronotum sont de couleur rouge clair ou brun. Le corps est de coloration rougeâtre.

Les mâles ont des antennes noires avec les quatre premiers articles roux, chez les femelles ; ils sont entièrement rouges (Balachowsky, 1962) (Fig. 6 & 7).

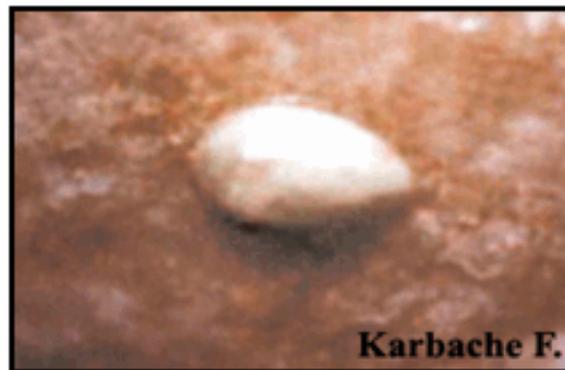


Figure 5 : Œuf de *Callosobruchus maculatus* F. (Gr. 40 x 0.8)



Figure 6 : Adulte femelle de *Callosobruchus maculatus* F., vue dorsale. (Gr. 10 x 8)

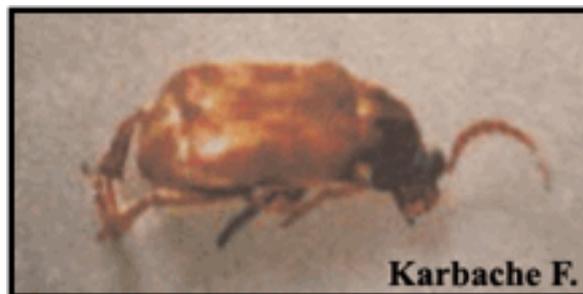


Figure 7 : Adulte mâle de *Callosobruchus maculatus* F., vue dorsale. (Gr. 10 x 8)

Chez la femelle, on observe la présence de deux formes ; une apte au vol appelée 'femelle de la phase bonne volière' ; caractérisée par une faible fécondité et une dense pilosité. La seconde forme, inapte au vol 'femelle de la phase non volière' dont les femelles sont caractérisées par un abdomen partiellement recouvert. Elles sont rencontrées dans les magasins de stockage (Utida, 1954)

Recouverts d'une pilosité fine, les élytres sont fortement sclérifiés et ne sont utilisés que lors du vol. Ils protègent ainsi les ailes membraneuse et la plus grande partie de

L'abdomen, sauf chez la femelle dont le dernier tergite abdominal reste découvert (Gaitan, 1990).

Delobel & Tran (1993), soulignent que les individus qui viennent juste d'émerger présentent des soies dorées et blanches. Leurs élytres sont noirs avec des zones rousses revêtues d'une pubescence blanche et dorée.

1.5. BIOLOGIE :

Callosobruchus maculatus F. contamine les graines au champ et une fois introduite dans les entrepôts, elle continue à se multiplier (Singh & Taylor, 1978 ; Sales & al., 2000).

La ponte a lieu deux heures après l'accouplement qui se produit de jour ou de nuit

Il peut exister 5 à 6 générations successives par an au niveau des entrepôts chauffés (Fleurat lessard, 1980).

Selon Lapesme (1944), Multon (1982) et Khalfi (1983). Les œufs peuvent être déposés hors des graines sur les supports, les planches de bois, les vitres etc.

Chez la femelle gravide, la ponte est déclenchée par un stimulus de nature chimique présent dans les téguments de la graine (Delobel, 1999).

En règle générale, le développement de l'œuf dure de 5 à 10 jours à partir du moment de la ponte. La première nécessité pour la larve à l'éclosion est d'accéder à la graine (Southgate, 1983).

Après l'éclosion, la larve pénètre invariablement au point d'adhésion de l'œuf en s'arc-boutant dans la partie convexe. Les œufs mal placés avortent (Multon, 1982).

La larve néonate de type chrysomélien pénètre dans la graine et passe au deuxième stade apode. La nymphose a lieu soit dans la graine elle-même, soit à sa proximité (Balachowsky & al., 1962).

Le développement larvaire est en fonction de la température ambiante. Il peut être très rapide autour de son optimum de 15 à 20 jours à une température de 32°C si l'insecte se développe dans des graines qui constituent son habitat préférentiel. Au contraire, il se prolonge pendant plusieurs mois si les conditions sont défavorables (Delobel, 1999). Selon Hoffman & Labeyrie (1962) ; le nombre de mue est de deux à quatre.

Khalfi (1983), confirme qu'à une température de 30° C et une humidité relative de 40 %, *Callosobruchus maculatus*F. passe par trois stades larvaires. Selon ce même auteur et sous les mêmes conditions d'expérimentation, la durée de développement est de 29 jours. Cette durée varie dans les limites assez larges avec l'espèce de la graine hôte, son état d'hydratation et la température (Multon, 1982).

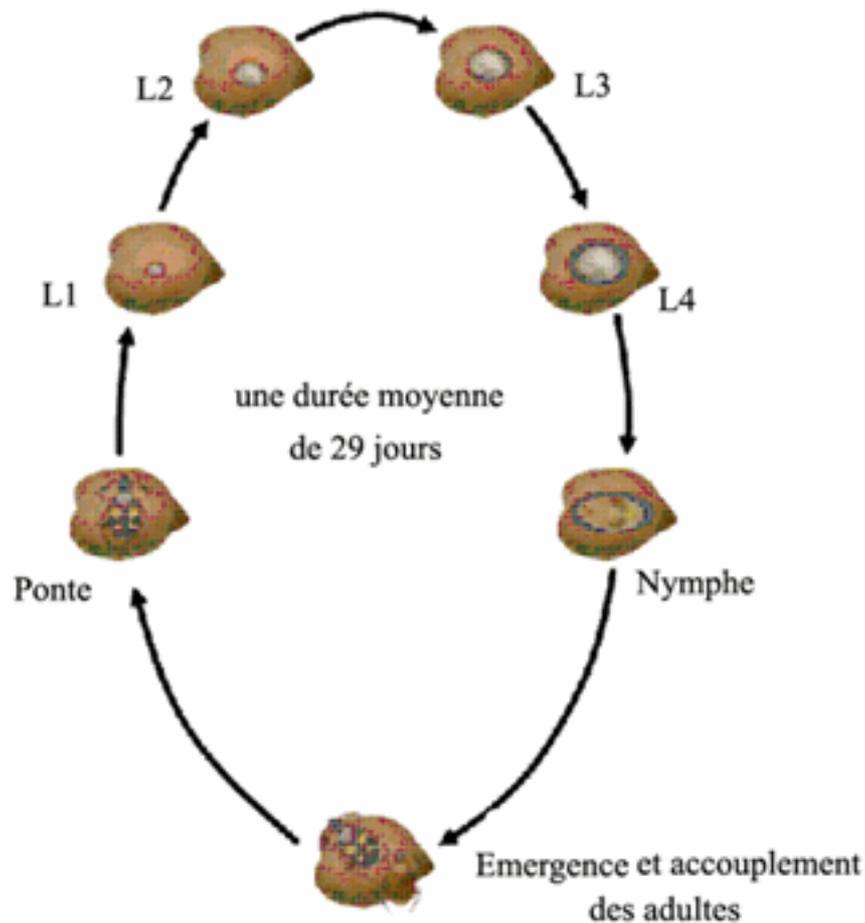


Figure 8: Cycle de développement de l'espèce *Callosobruchus maculatus* (F.) à une température de 30°C et une hygrométrie de 70 % ± 5 % (Mouhouche, 2005).

1.6. Dégâts

Bien que la dureté et l'épaisseur du tégument des graines mures soient des barrières efficaces contre la pénétration des larves, sa composition chimique joue un rôle important (Janzen, 1977).

Les graines de légumineuses sont fortement attaquées pendant le stockage par *Callosobruchus maculatus* (Singh & Emden, 1979 ; Shih-chieh & al., 2002) affectant ainsi le poids des graines, leur faculté germinative et leur valeur marchande (Kumar & al., 1993) (Fig9 & 9a et 9b).

Les pertes subies par les graines de légumineuses suite aux attaques de ce ravageur sont de l'ordre de 80 % en quelques mois atteignant souvent 100 % à des taux de consommation initiaux de 1 % à 2 % (Caswell, 1961 ; Labeyrie, 1981).

Les dégâts provoqués par *Callosobruchus maculatus* sont dus essentiellement aux larves qui dévorent les graines (Kellouche, 2005).

L'infestation par les insectes engendre l'apparition des facteurs antinutritionnels comme l'acide phytique et l'inhibition de l'activité trypsique (Xavier-Filho, 1993) ; de l'acide urique (Ali & Muzquiz, 1998) mais aussi une perte de poids des graines (Gueguen & Cerletti, 1994).

Par ailleurs, on observe une modification de la composition en vitamine (Huis & Rooy, 1998) et une augmentation en cellulose (Martin-Cabrejas & al., 1995).

D'autre part, la qualité des protéines subit une diminution de la composition en méthionine et une augmentation de l'acide urique et de l'azote non protéique ; ce qui rend les graines impropres à la consommation humaine (Keita & al., 2001).



Figure 9a : Dégâts occasionnés par *Callosobruchus maculatus* F. sur grains de pois chiche commercial (Original). (Gr. 10 x 4).

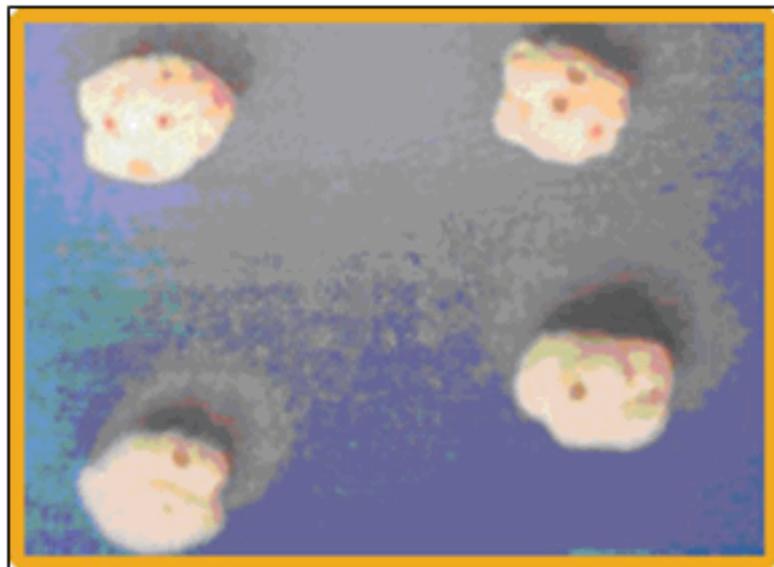


Figure 9b : Trous d'émergence de *Callosobruchus maculatus* F. (Original). (Gr. 10 x 4).

2. Stratégies et moyens de lutte contre *Callosobruchus maculatus* F.

Les insectes sont les ravageurs les plus redoutables, car leur seule présence est nuisible et déprécie le stock tout entier quel que soit leur nombre (Multon, 1982).

De ce fait, la protection des graines entreposées a toujours été une polémique, puisqu'elle peut survenir quand les récoltes sont encore sur pied (Ali & Muzquiz, 1998).

Ainsi, pour lutter contre le ravageur des graines stockées *Callosobruchus maculatus* F., deux méthodes sont préconisées ; l'une est préventive qui consiste en une hygiène rigoureuse des différents moyens depuis la récolte des graines jusqu'à leur entreposage ; elle se pratique avant l'installation du ravageur. La deuxième méthode est curative utilisée quand les entrepôts sont déjà infestés.

2.1. Méthode préventive

Les moyens prophylactiques sont un élément primordial de lutte. Cette prévention peut être envisagée de plusieurs façons.

2.1.1. Les mesures d'hygiènes

Parmi les moyens prophylactiques élémentaires, la mise en application régulière des mesures d'hygiènes constitue le moyen le plus important et le plus efficace pour contrôler *Callosobruchus maculatus* pour cela, Ducom (1982), préconise plusieurs méthodes à savoir :

- Un nettoyage convenable des locaux de conservation et du matériel destiné à l'emmagasinage, par un badigeonnage ou une pulvérisation d'insecticides.
- Une incinération des déchets de nettoyage.
- Une vérification des locaux, des crevasses et des recoins qui peuvent abriter des insectes ou des grains inaccessibles aux insecticides de contact.
- Un tri soigné éliminant ainsi les impuretés, les grains cassés et la poussière de farine.
- Respecter la rotation des stocks en réduisant au minimum les causes de contamination (Fields, 2001).

2.1.2. Lutte génétique

L'utilisation de variétés résistantes présente actuellement une méthode de contrôle efficace à l'égard de *Callosobruchus maculatus*.

Selon Gwinner & al. (1996), certaines variétés de pois chiche cultivées présentent une faible sensibilité vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* et *Callosobruchus maculatus* tels que Flip 82150C et ILC 3279 (Mouhouche & Fleurat lessard, 2003).

Dans ce contexte, l'objectif des programmes d'amélioration de la résistance des graines de légumineuses est de combiner dans un même cultivar la résistance de la gousse et celle de la graine, ce qui permet d'assurer une protection efficace sur champ et lors des entreposages (Boutin & al., 2006).

Selon Surech & al. (2006) ; plusieurs produits naturels révèlent un effet insecticide, a titre d'exemple *Pisum sativum* (pois) qui a été particulièrement efficace contre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae).

2.1.3. Lutte par dépistage

- Dépistage ordinaire :

Cette méthode est très utilisée, elle consiste à surveiller l'état du grain par la mesure de la température et d'humidité du grain dans la masse, au moyen de détecteurs électriques installés à demeure (Mills, 1990). Cependant, cette méthode aléatoire reste insuffisante

pour déceler les formes cachées qui provoquent des dégâts considérables au cours de leur développement.

- Dépistage par infrarouge :

Ce procédé permet de détecter les protéines animales des insectes et même les formes cachées, il consiste à réaliser une résonance magnétique nucléaire (RMN) pour déceler la présence des acariens et éventuellement les fragments d'insectes (Wilkin & Chambers, 1987).

- Dépistage électroacoustique :

Le principe de cette opération, est de pouvoir détecter l'activité des insectes et de surveiller le niveau de population présente dans la denrée, par des microphones sensibles. Cette technique permet de réduire le coût de l'inspection et les traitements (Mankin & al., 1998).

Le son des insectes, peut être décelé par la méthode de simulation par ordinateur sans pour cela réaliser des prélèvements au niveau du stock. Un logiciel informatique permet la détermination de l'insecte et son niveau d'infestation (Hagstrum & al., 1990).

- Méthode immuno-enzymatique :

C'est une analyse minutieuse, qui donne une estimation de l'infestation des grains et de la farine (Fields, 2001).

L'extrait obtenu après broyage est soumis à un dosage par le Test ELYSA du type sandwich. La coloration de l'extrait obtenu est mesurée par spectrophotométrie qui nous

permet de calculer la concentration en protéine d'insectes, cette quantité de protéines nous renseigne sur l'infestation des grains (Wirsta & al., 1996).

2.2. Lutte curative

Elle intervient directement contre les insectes en place. Parmi les moyens utilisés nous citons la lutte physique, biologique et chimique.

2.2.1. Lutte physique

Les moyens préventifs sont obligatoires mais elles restent insuffisantes, dans ce cas le recours aux procédés curatifs est indispensable.

Les moyens de lutte physique utilisables, font appel au choc thermique, au froid, aux lits fluidisés aux radiations ionisantes et aux ondes électromagnétiques.

a. L'atmosphère modifiée

L'entreposage en atmosphère modifiée, ne laisse aux insectes aucune chance de survie.

Plusieurs auteurs affirment qu'à une concentration en gaz carbonique supérieure à 60% et une concentration en nitrogène qui varie entre 97 et 99 % en raison de la raréfaction de l'oxygène inférieure à 1%, les insectes meurent par asphyxie (Mc Gaughey & Akins, 1989 ; While & Jayas, 1991 ; Gwinner & al., 1996).

Cependant, le dioxyde de carbone est plus efficace que le nitrogène dans la modification de l'atmosphère. Il provoque généralement la déshydratation des insectes.

b. La chaleur

Toutes les formes des ravageurs des denrées stockées, se trouvant dans une masse de grains ; 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 (Fleurat lessard, 1989).

Théoriquement, c'est le moyen le plus sûr pour lutter contre les insectes des denrées, à condition de respecter quelques principes simples : le choc thermique doit se faire le plus rapidement possible et être suivi impérativement d'un refroidissement jusqu'à la température normale de conservation.

D'après Shahein (1991) ; les individus de *Callosobruchus maculatus* sont éliminés après 3 minutes d'exposition à une température de 50°C.

c. Le froid

Ce procédé peut être employé pour la conservation des récoltes et consiste à faire passer un courant d'air frais dans la masse des grains.

D'après Sinha & 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 (Ducom & Bourges, 1987) ; les insectes présentent des perturbations physiologiques suivies d'une mort certaine (Lee & al., 1993).

Cette méthode est souvent coûteuse en énergie électrique (Fields, 1992), elle exige des cellules bien isolées et un puissant circuit de ventilation associé au générateur d'air frais.

d. Destruction par les ondes électromagnétiques non ionisantes

L'utilisation de rayonnement du type micro-onde ou haute fréquence est susceptible d'assurer une bonne désinsectisation, il détruit totalement les formes cachées des insectes après irradiation de courte durée et ne laisse pas de résidus.

Le traitement consiste à chauffer les produits à une température létale pour toutes les espèces de ravageurs et aux différents stades par l'infrarouge (Sinha & Watters, 1985).

De ce fait, les insectes sont tués par l'élévation de la température de leur corps (Fleurat lessard, 1998).

L'avantage de ce procédé est lié à la nature du rayonnement. Néanmoins, il est onéreux et consommateur d'énergie.

e. Les radiations ionisantes

L'irradiation des denrées par des rayons gamma est une technique utilisée dans de nombreux pays pour lutter contre plusieurs insectes ravageurs ; les doses élevées éliminent les insectes alors que les faibles doses les stérilisent (Dongre & al., 1997).

Selon Higland, (1991) ; l'exposition à de faibles doses allant de 4,8 à 7,2 KGy pendant 10 à 15 minutes, inactive les œufs et les adultes de *T. castaneum* et de *C. chinensis*.

Par ailleurs, des résultats montrent qu'une dose de 20 Gy permet une inhibition efficace du développement des bruches à l'état larvaire et une dose de 1500 Gy est nécessaire pendant une période de trois jours pour détruire les adultes (Dongre & al., 1997).

2.2.2. L'utilisation des pesticides

Dans le domaine de la lutte chimique, nous citons deux moyens essentiels à savoir la pulvérisation et la fumigation.

a. La pulvérisation

Les insecticides de contact pénètrent dans les tissus de l'insecte après avoir traversé la cuticule (Champ & Dyte, 1978), parmi ce groupe d'insecticides nous citons :

Les pyréthrinoides de synthèse agissent par contact et ingestion, en provoquant souvent un effet choc sur les insectes comme *Callosobruchus maculatus* F. et *Tribolium castaneum* (Collins, 1990 ; Shakoori & al., 1993 ; Tufail & al., 1994).

De plus, plusieurs auteurs mentionnent le pyrimiphos-méthyl et le chlorpyrifos-méthyle, comme étant des organophosphorés, aux propriétés de rémanence particulièrement intéressantes (Pacheko, 1990 ; Sayaboc & Acda, 1990 ; Hirashina & al., 1992).

b. Les fumigants

Les fumigants sont des gaz toxiques utilisés pour désinsectiser une denrée dans un espace clos. De toute évidence, les enceintes de fumigation, doivent être suffisamment étanches pour que le gaz pénètre et puisse diffuser entre les grains et dans les grains assez de temps, pour tuer les insectes présents, ceci quel que soit leur stade de développement.

La liste des composés de ce groupe applicable aux grains, se résume à la phosphine (phosphore d'hydrogène) et au tétrachlorure de carbone employé seul ou en association avec le dichloréthane (Ducom, 1982).

Selon Lienard & Seck (1994), ces fumigants réduisent les pertes occasionnées par les bruches au niveau des entrepôts du fait qu'ils peuvent atteindre les formes cachées par leur diffusion à l'intérieur des graines. Seulement, plusieurs espèces ont montré certaines résistances face aux fumigants dans le monde, dont certains pays africains (Liener, 1982)..

Au cours de ces dernières années, l'emploi des fumigènes a été de plus en plus remis en question. Ceci s'applique en particulier au bromure de méthyle mais également à la phosphine. Les problèmes sont principalement liés aux effets négatifs sur l'environnement, à un éventuel caractère cancérigène et au développement de résistance chez les ravageurs cibles. Le bromure de méthyle est un produit susceptible de détruire l'ozone (Muller & al., 1997 ; Kostyukovsky & al., 2002). Il a été retiré et n'est plus commercialisé.

L'utilisation de pesticides pendant plusieurs années a entraîné de nombreux problèmes, entre autre la présence de résidus sur les denrées stockées et le développement du phénomène de résistance chez les insectes.

2.2.3. Lutte biologique

Tout organisme vivant, possède des ennemis naturels ou maladies qui régulent ses populations. Ce sont ces antagonistes naturels des ravageurs, que les méthodes biologiques de lutte mettent à contribution. Les avantages offerts par ces procédés biologiques résident surtout dans l'absence presque totale de risques toxicologiques.

a. Utilisation des parasitoïdes

Les parasitoïdes sont des insectes qui se développent au dépend des insectes nuisibles, en règle générale ; se sont exclusivement les larves qui parasitent l'hôte.

Arbogost & Mullen (1990), affirment que le parasite *Anisopteromalus calandrae* (hymenoptera, pteromalidae), est un agent de contrôle efficace contre *Callosobruchus maculatus*, il induit un taux de parasitisme de 15 à 20 % qui peut atteindre 40% si le parasite, est introduit en grand nombre et très tôt en période de stockage (Smith, 1993).

b. Utilisation des prédateurs

Les prédateurs sont des organismes vivants qui tuent d'autres êtres vivants pour s'en nourrir, contrairement aux parasitoïdes, les prédateurs dévorent plusieurs proies au cours de leur vie.

Il existe des acariens prédateurs d'œufs, des larves et adultes d'insectes ravageurs des grains stockés, comme le Cheylète cannibale *Cheyletus eruditus* (Schranck.) contre *C. maculatus* (Mills, 1990).

c. Lutte par les agents pathogènes

Sur le plan de la lutte biologique contre les ravageurs des stocks, l'utilisation des agents pathogènes (bactéries, virus, champignons) et les parasitoïdes sont réunis sous le concept de biopesticides.

L'agent pathogène *Bacillus thuringiensis*, est commercialement disponible sous différentes formulations. Ce biopesticide donne des résultats satisfaisants contre les insectes des denrées entreposées (Gwinner & al., 1996).

D'autres agents pathogènes, comme *Beauveria bassiana* utilisé à la dose 0,5g /q s'est montrée efficace vis-à-vis de *Tribolium castaneum* (Herbst.), les mortalités ont dépassé les 50 % après 14 jours de traitement (Padin & al., 1997).

D'autres agents pathogènes, comme *Beauveria bassiana* utilisé à la dose 0,5g /q s'est montrée efficace vis-à-vis de *Tribolium castaneum* (Herbst.), les mortalités ont dépassé les 50 % après 14 jours de traitement (Padin & al., 1997).

Selon Lee & al. (1993), le traitement avec une concentration de 100 ppm de *Pseudomonas syringae*, décroît la capacité de résistance et de survie des insectes pendant une exposition de 24 heures à 5°C. Dans tous les cas, l'augmentation de la dose de traitement de 100 à 1000 ppm, donne un taux de mortalité allant de 25 à 50 % sur la majorité des insectes des denrées stockées *Callosobruchus maculatus* (F.), *Plodia interpunctella* (Hübner.), *Cryptolestes pusillus* (Schonher.), *Rhyzopertha dominica* (F.), *Gibbium psylloides* (Gempinski.), *Tenebrio molitor* (L.) et *Sitophilus granarius* (L.).

2.4. Utilisation des produits minéraux

Le sable siliceux peut être mortel pour les bruches (Kossu & Aho, 1993).

Le **KAOLIN**, Phosphate tricalcique et le carbonate de calcium peuvent être mélangés aux grains en raison de leur effet protecteur : ces matériaux pulvérulents inertes érodent la fine pellicule de cire imperméable, qui recouvre la cuticule de l'insecte, entraînant ainsi, une déshydratation provoquant sa mort.

On peut également mélanger aux graines de la cendre de bois ou du sable pour contrôler les infestations de bruches où tous les stades peuvent être tués par asphyxie lorsque la poudre utilisée est très fine (Herbert & al., 1997).

Cette méthode de lutte est pratique que pour le traitement de petites quantités.

2.5. L'utilisation des végétaux

Le développement de résistance par des insectes aux insecticides a permis de développer d'autres matières actives à base d'extraits végétaux pouvant avoir des modes d'actions différents à ceux des insecticides déjà utilisés.

Les végétaux produisent des composés secondaires tel que les lectines, les composés soufrés, les alcools etc. ; leur utilisation en tant que biopesticides dans la protection des graines de légumineuses contre les insectes a fait l'objet de nombreuses études notamment en zone tropicale (Arthur, 1996).

Ces extraits végétaux à propriétés insecticides sont utilisés sous plusieurs formes. A titre d'exemple, nous citons les saponines des légumineuses qui réduisent remarquablement l'émergence de *C. maculatus* (Mouhouche, 2005).

Aussi, les tannins condensés du tégument de fèves pourraient permettre de réduire les taux d'infestations des graines de *vicia faba* par *callosobruchus maculatus* en agissant sur le développement larvaire de celui-ci (Boughdad et al., 1986).

2.5.1. Utilisation sous forme de poudre

Plusieurs tests de laboratoire ont été réalisés sur les extraits de diverses plantes, pour connaître l'efficacité de leur action anti-appétante ou toxique vis-à-vis de nombreux insectes des denrées stockées. Ainsi les graines de margousier, réduites en poudre et mélangées au maïs, ont un effet très efficace sur les adultes de *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus zéamais* L. et *Callosobruchus maculatus* F. les feuilles de cette plante réduisent également la fécondité des adultes de tous ces insectes et perturbent leur développement larvaire (Pereira & Wohlegmuth, 1982).

2.5.2. Utilisation sous forme d'extraits organiques

Talukder & al. (1998), montrent que les extraits des graines de *Thévilia péruviana*, *Curissa caravida*, *Arachlis hypogae* et de *Ricinus communis* extraites par l'éther de pétrole à une température comprise entre 35 et 60° C, sont toxiques vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* F.

2.5.3. Utilisation sous forme d'extraits aqueux

D'après Hamraoui & Regnault-Roger (1997), Gwinner & al., (1996) ; les extraits aqueux de plusieurs plantes présentent une activité insecticide intéressante. Ainsi les extraits aqueux de pyrèthre et de plusieurs espèces de labiacées manifestent une efficacité élevée sur presque la totalité des ravageurs des denrées stockées en l'occurrence *Callosobruchus maculatus* F.

2.5.4. Utilisation sous forme d'huiles essentielles

Les huiles essentielles proviennent d'espèces végétales très variées, elles sont extraites à partir d'écorces de plantes, de fruits, de racines, de tubercules, de tiges, de feuilles et de fleurs.

Plusieurs huiles essentielles se sont avérées efficaces contre les ravageurs des denrées stockées.

Les huiles essentielles produisant des composés terpéniques (Kellouche & al., 2004a) sont souvent préconisées pour contrôler les populations de bruches dans les systèmes de

stockage comme l'ont montré les travaux de Gbolade & Adebayo (1993), Seck & al. (1993), Ramzan (1994), Gakuru & Fouabi (1995), Don-Pedro (1996), Rajapakse & Van Amden (1996), Keita & al. (2001), Raja & al. (2001), Ketoh & al. (2002) et Kellouche & al. (2004b).

Parallèlement, Kellouche & Soltani (2004); montrent qu'à une dose de 0,15 % soit l'équivalent de 4ml d'eugénol. Ce dernier, représente le principal composé de l'huile essentielle des clous de girofle. A cette dose, tous les individus de *Callosobruchus maculatus* F. sont éliminés en moins de 24 h.

Par ailleurs, l'oviposition de l'espèce est empêchée à des doses allant de 8 à 14 ml d'huile/ Kg (Mohiuddin, 1990).

Cependant, malgré les résultats obtenus certes encourageants, l'efficacité de ces substances utilisées dans les conditions réelles de stockage reste à démontrer.

Partie II : PARTIE EXPERIMENTALE.

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

1. Sensibilité des variétés de haricot aux attaques de *Callosobruchus maculatus* F.

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel animal

Les adultes de *Callosobruchus maculatus* utilisés pour nos essais proviennent d'une souche élevée au laboratoire de biologie de l'université de Tizi Ouzou. L'espèce a été déterminée par le muséum d'histoire naturelle de Paris (France).

L'élevage de masse conduit depuis 1998 au laboratoire de zoologie de l'Institut National Agronomique d'El Harrach. Cet élevage est réalisé dans des bocaux en verre d'une capacité de 78,5 cm fermés par de la moustiquaire permettant l'aération des insectes. Le substrat alimentaire est constitué par 100g de pois chiche commercialisé infesté par 20 couples de *C. maculatus*. Les bocaux constitués sont maintenus à l'obscurité dans une étuve portée à $28^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C et une humidité relative de 70 ± 5 %.

Lors de notre expérimentation, nous avons travaillé sur des adultes âgés de zéro à 24 heures. Ces derniers sont obtenus à partir des tamisages quotidiens.

1.1.2. Les variétés de haricot :

Les variétés de haricot sont fournies par l'Institut Technique de Grandes Cultures de Oued smar El Harrach (ITGC).

Seule la variété sauvage d'origine indienne a été récoltée dans la station horticole de l'INA. Il s'agit de : *Phaseolus caracalla*.

Les variétés utilisées sont les suivantes :

- La variété S102 (B15V2).
- La variété Terga (V2B2).
- La variété Pinto (V1B2).
- La variété Cotender.
- La variété *Phaseolus caracalla*.



Figure 10: *Variété S102 (original)*



Figure 11 : *Variété Terga (original)*



Figure 12: *Variété Pinto (original).*



Figure 13 : *Variété Cotender (original).*

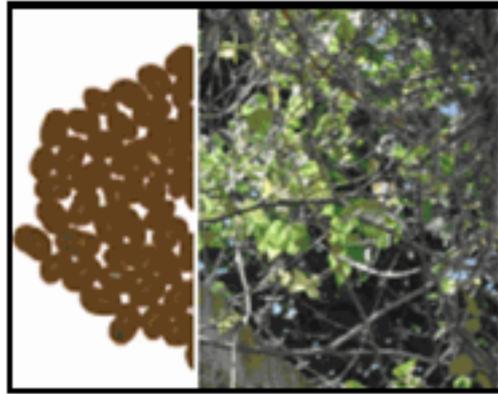


Figure 14 : Variété *Phaseolus caracalla* (original).

Ces variétés ont été introduites en Algérie dans le but d'étudier leur comportement par rapport au rendement. Parmi ces variétés, la S102 paraît la plus résistante à la sécheresse et la plus rentable.

Les caractéristiques de ses dernières sont mentionnées dans le tableau 4 et les figures 11, 12, 13,14 et 15.

<i>Légumineuses</i>	<i>Longueur - largeur ou diamètre moyen mm.</i>	<i>Couleur</i>	<i>Texture</i>	<i>Caractéristiques</i>
<i>P. vulgaris</i> <i>S102</i>	7,3 – 4,9	Noire Hile blanc	Lisse	
<i>P. vulgaris</i> <i>Terga</i>	10,3 – 5,5	Blanc pale	Lisse	Cultivars sélectionnés pour leurs résistances à certaines maladies cryptogamiques
<i>P. vulgaris</i> <i>Pinto</i>	11,1 – 6,7	Brun moucheté de grenat	Lisse	Telles que la rouille et l'anthracnose. (Kellouche, 2005)
<i>P. vulgaris</i> <i>Cotender</i>	14,1 – 5,3	Marron clair	Lisse	
<i>Phaseolus</i> <i>Carracalla</i>	4	Marron foncé	Lisse	Variété sauvage (Original)
<i>C. arietinum</i> <i>Gros calibre</i>	12	Brun	ridée	Très consommée et importée du Mexique. (Kellouche, 2005)

Tableau 4: Caractéristiques des variétés de haricot et du pois chiche utilisées.

1.2. Détermination des paramètres biologiques

1.2.1. Fécondité et longévité

La fécondité est déterminée par le nombre d'œufs émis par la femelle au cours de sa vie. Elle est étudiée sur 25 couples d'adultes âgés de zéro à 24 heures répartis à raison de cinq couples par boîte de pétri en verre de 11cm de diamètre. La quantité de graines de haricot réparti par bocal de capacité de 190 cm est de 10g avec 5 couples. Le nombre de répétition est fixé à cinq.

L'observation des pontes est quotidienne et est effectuée à la loupe binoculaire avec un éclairage direct jusqu'à la mort des femelles et des mâles (les œufs pondus sont comptés puis éliminés).

1.2.2. Fertilité et durée de développement

Pour déterminer la fertilité et la durée de développement de l'espèce *Callosobruchus maculatus* F., 150 œufs âgés de zéro à 48 heures sont récupérés lors de l'étude de la fécondité. Ces œufs sont répartis à raison de 30 œufs par bocal contenant 15 graines reconstituées, ceci pour chaque variété.

Le nombre de répétition étant fixé à cinq. Le pourcentage d'éclosion est calculé par la formule suivante :

$$\text{\% éclosion (Ec \%)} = \frac{\text{Nombre d'œufs éclos}}{\text{Nombre d'œufs pondus}} \times 100$$

Pour ce qui est de la durée de développement, cette dernière est calculée comme la durée écoulée à partir du temps médian qui représente le milieu de la période de ponte jusqu'à l'émergence de 50% de l'effectif des adultes. C'est un paramètre important, il permet une évaluation globale de la qualité nutritionnelle de l'alimentation des insectes. Cette durée est calculée suivant la méthode d'Haryadi (1994) :

$$\text{DMD} = j_x + \frac{(n_{50} - n_x)}{(n_y - n_x)} * (j_y - j_x)$$

j x : jours de contrôle précédent l'émergence de 50 % de l'effectif total.

j y : jours de contrôle suivant l'émergence de 50 % de l'effectif total.

n x : effectif cumulé au j x.

n y : effectif cumulé au j y.

n 50 : 50 % de l'effectif des adultes émergés.

1.3. Conditions expérimentales

Les boîtes de pétri en verre préparées pour l'étude des paramètres biologiques sont placés dans une étuve obscure réglée à une température de 30°C ± 1° et une humidité relative de 70 ± 5 %.

1.4. Calcul de l'indice de sensibilité variétal 'IS'

L'indice de sensibilité de Dobie est basé sur deux critères de la dynamique des populations les plus utilisés pour la détermination de la sensibilité des graines aux attaques des insectes des denrées stockées. Il s'agit du nombre total des adultes émergents (NE) et de la durée

moyenne de développement (DMD). A l'indice le plus élevé correspond la variété la plus sensible.

$$IS = [\log NE / DMD] * 100$$

2. Essais de toxicité des variétés de haricot sur *Callosobruchus maculatus* F.

2.1. Essais sur graines entières de haricot

Les différents tests biologiques ont été réalisés sur des graines entières des cinq variétés de haricot à raison de 100g pour chaque variété. Ces graines sont réparties dans des bocaux à raison de 20g par bocal infesté par cinq couples de *Callosobruchus maculatus* âgés de 0-24 heures.

2.2. Essais sur graines reconstituées de pois chiche

2.2.1. Préparation des graines reconstituées de pois chiche

a. Préparation des farines

La farine de pois chiche utilisée appartient à une variété commercialisée importée de Turquie calibre 10.

Les farines de pois chiche et des variétés de haricot sont obtenues après un broyage des graines par un broyeur de graines dures de type IKA. Les graines ont subi trois broyages successifs.

Les farines obtenues sont tamisées avec des tamis de 0,5 mm de diamètre de maille. Les farines obtenues sont utilisées pour confectionner des graines de pois chiche enrichies en haricot.

b. Préparation des graines reconstituées enrichies de farine de haricot

Les farines de haricot ont été additionnées à la farine de pois chiche dans des proportions bien connu (0 %, 10 %, 20 %, 40 %, 80 % et 100 %). Le mélange homogène des farines est réalisé dans un robot centrifuge pendant 60 secondes (Fig15).

Pour obtenir une pâte bien consistante, non cassante et facile à modeler ; nous avons réalisé des tests préliminaires afin de déterminer la quantité d'eau nécessaire. A ces 100g de mélange, nous avons donc ajouté 45ml d'eau.

Cette pâte a été par la suite étalée à l'aide d'un rouleau à pâtisserie et coupée équitablement en petits carrés de 1cm de coté.

A partir de chacun de ces derniers, nous avons réalisé des graines de forme sphérique. Celles-ci ont été mises à sécher pendant 48 heures avant utilisation dans une étuve obscure réglée à une température de 20°C afin d'éviter toute dénaturation de la fraction protéique.

Ce procédé a été réalisé et suivi pour toutes les variétés utilisées au cours de notre expérimentation.

Après séchage, ces graines sont réparties dans des bocaux de dimensions sus cité à raison de 20g / bocal. Le nombre de dose étant fixé à six pour chaque variété, l'expérience a été réitérée cinq fois pour chaque dose.



1. Pesée des farines.



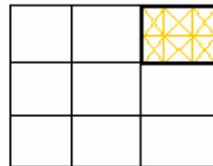
2. Mélange des farines.



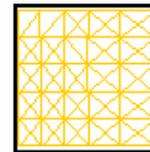
3. Obtention de la pâte.



4. Etalement de la pâte.



5. Réalisation d'un quadra de 1cm de coté.



1 cm.
6. Formation de carre de 1 cm.



7. Obtention des graines reconstituées.

Figure 15: Schéma représentatif des étapes de confection des graines reconstituées (Original).

2.3. Effet de l'extrait des lectines tronquées

2.3.1. Extraction des lectines tronquées du haricot

La méthode utilisée pour extraire les lectines tronquées à partir du haricot est celle décrite par De Azevedo Moreira & Consani Perrone (1976) (Fig17).

Cette méthode consiste à mélanger 80g de farine de haricot de la variété jugée la plus résistante dans 800ml d'eau distillée. La variété sauvage est la plus toxique mais pour des

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

raisons de disponibilité, nous avons retenu la variété S102 classée deuxième sur la base de l'indice de sensibilité.

Le PH de la solution a été ajusté à 2,4 à l'aide de l'acide chlorhydrique HCl. Cette solution a été soumise à un agitateur électrique pendant une durée de quatre heures afin d'obtenir une solution homogène.

Après centrifugation à 2000g pendant 20 minutes à une température de 4° C, on récupère les surnageants. Par la suite, on réalise des tests de toxicité aux doses respectives de : 50 ml, 100 ml et 200ml.

Ces quantités d'extraits sont mélangées séparément à 100g de farine de pois chiche commerciale jusqu'à obtention d'une pâte homogène. L'expérience est répétée cinq fois pour chaque traitement. Les graines de pois chiche enrichies en extrait de haricot sont façonnées selon le procédé décrit au paragraphe 2.2.1.

Les résultats des mortalités des adultes retenus dans nos essais correspondent à ceux obtenus après trois jours d'exposition des insectes au traitement.



1. Pesée des farines



2. Mélange farine solution HCl
PH = 2.4



4. Centrifugation de la solution dans une centrifugeuse réfrigérée réglée à 4° C, 2000 g pendant 20 minutes



3. Récupération des Surnageants



5. Extrait de lectines

Figure 16: Les étapes suivies pour l'obtention d'extrait de lectines à partir de la variété la moins sensible (Original).

2.3.2. Effet de l'extrait de lectines tronquées de haricot sur le tube digestif de *Callosobruchus maculatus* F.

La technique utilisée afin de réaliser les coupes histologiques est celle de Martoja & Martoja (1967).

Pour réaliser cette étude, nous avons récupéré au cours de notre expérimentation des insectes. Ces derniers sont placés dans quatre boîtes de pétri bien distinctes, la première pour le témoin, la seconde renferme les adultes émergents à partir de graines reconstituées de pois chiche enrichie à 40% de farine de la variété S102, la troisième et la quatrième concerne les adultes émergents à partir de graines reconstituées contenant l'extrait de lectines tronquées aux doses respectives de 50ml et 100 ml.

L'insecte est préalablement maintenu par des épingles fines dans une boîte de pétri contenant au fond de la paraffine refroidie et du Bouin aqueux. Les manipulations sont effectuées sous loupe binoculaire, à l'aide de pinces fines. Dès que le tube digestif est complètement dégagé de ses attaches et du corps gras, nous entamons les étapes de la technique histologique qui sont comme suit (Fig18):

a. Récupération et fixation des tubes digestifs

Après l'extraction des tubes digestifs des insectes. Ces derniers sont récupérés et placés dans des tubes à essais contenant un liquide fixateur constitué par le Bouin Aqueux, pour les fixer et les maintenir dans un état proche de celui du vivant. Ces tubes à essais portent des étiquettes où sont mentionnés les dates, fixateur et traitement.

b. Déshydratation des tubes digestifs

Cette étape a pour but d'éliminer totalement l'eau et mettre fin à l'action du liquide fixateur. Elle consiste à passer les tubes digestifs dans des bains d'alcool de concentration croissante soit 70°, 95° et 100°. Deux bains pour chaque alcool et une demi heure pour chaque bain. Les tubes digestifs sont ensuite mis dans un bain d'attente constitué par l'alcool 70°, puis on passe directement aux bains d'alcool 95° et 100°. Ensuite, les tubes digestifs sont traités par deux bains de butanol pendant 10mn chacun.

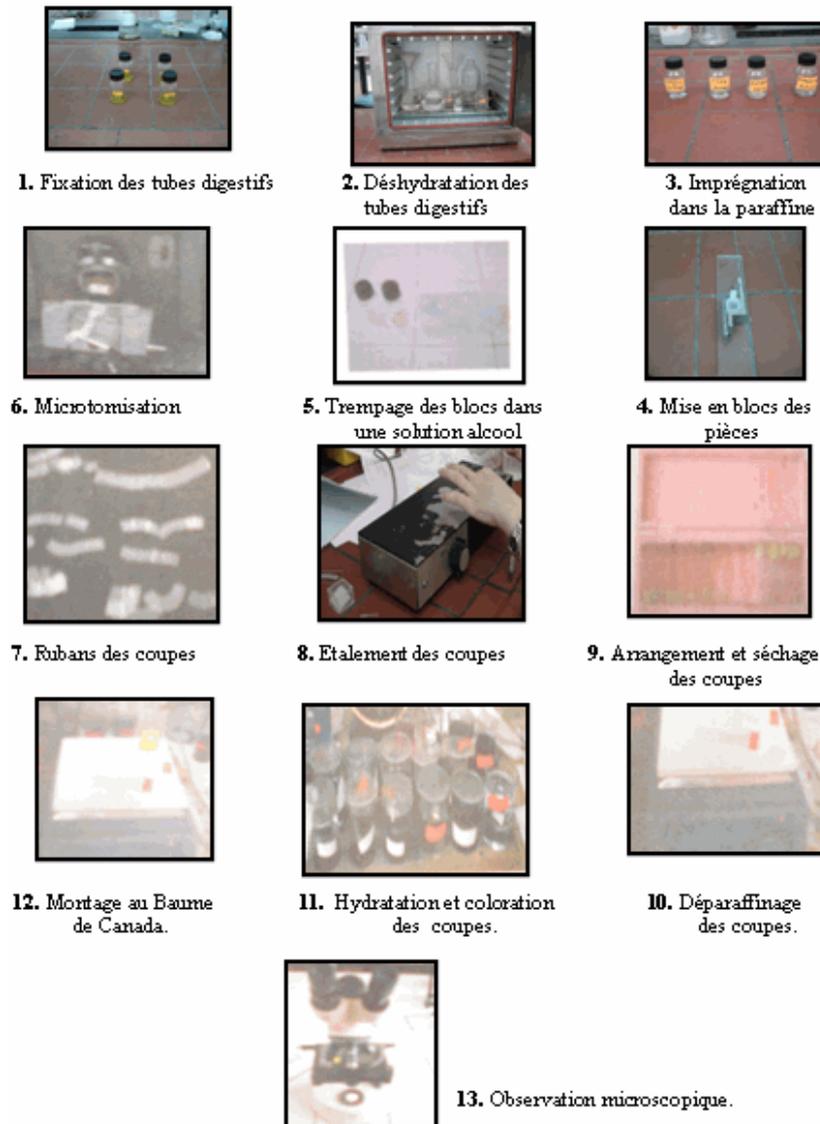


Figure 17: Les différentes étapes suivies pour la réalisation des coupes histologiques du tube digestif de *Callosobruchus maculatus* (Original).

Les tubes digestifs sont imbibés d'une goutte d'éosine préparée au laboratoire pendant une minute pour que l'on puisse distinguer les tubes digestifs de la paraffine au moment de l'étape d'imprégnation et d'inclusion.

c. Imprégnation et inclusion

L'imprégnation se fait par un solvant à la paraffine, dans le but d'éliminer complètement les traces d'alcool et pour éviter le risque de ne pas avoir une pénétration complète de la paraffine à travers le tube digestif, car l'alcool et la paraffine ne constituent pas un mélange homogène. Le solvant le plus couramment utilisé est le butanol.

L'imprégnation des tubes digestifs se fait à chaud dans les bains suivants :

- Un bain constitué par un mélange paraffine butanol dans les proportions (V/2, V/2) est mis pendant une heure dans une étuve réglée à une température de 60°C.

- Deux bains d'une heure chacun de paraffine déposés dans une étuve réglée à 60°C. L'inclusion et la mise en blocs des tubes digestifs sont réalisées après la sortie des pièces du bain de paraffine pure. Leur dépôt dans un moule constitué de deux barres de Leuckart correctement agencées sur une plaque de verre, et contenant la paraffine fondue pure.

Le tube digestif est introduit dans la paraffine et orienté transversalement. Ensuite, on complète le remplissage des barres de Leuckart avec la paraffine et avant sa solidification, on incruste des étiquettes où on mentionne l'état du tube digestif. Les blocs obtenus permettent une conservation illimitée des échantillons.

d. Confection et coulage des coupes

Avant de faire les coupes, Baker (1941) cité par Martoja & Martoja (1967), propose de traiter les blocs entamés par un bain mélange d'alcool 60° (9 vol.), avec la glycérine (1 vol.). Ensuite les blocs sont taillés au scalpel jusqu'à l'élimination de l'excès de paraffine qui entoure l'organe. Il est recommandé de donner à la surface des coupes la forme d'un trapèze ou d'un rectangle.

Les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome de type Minot, modèle American optical corporation 820 SPENCER. L'épaisseur des coupes est de 7µm. Les rubans des coupes obtenus sont déposés sur les lames bien propres, portant des étiquettes, où est mentionné l'état du tube digestif et contenant une goutte d'eau gélatinée (0,3g de gélatine, 100ml d'eau distillée et un cristal de thymol, et les faire chauffer doucement, jusqu'à dissolution). Les lames sont placées sur une plaque chauffante pour étaler les coupes. Le séchage des coupes s'effectue dans une étuve portée à une température de 40°C, pendant au moins 24 heures avant d'être colorées.

e. Déparaffinage, hydratation et coloration des coupes

Le déparaffinage consiste à éliminer le milieu d'inclusion des préparations. Celles-ci sont placées sur une plaque chauffante jusqu'à ce que l'on constate la liquéfaction de la paraffine. Elles subissent alors, successivement, deux bains de toluène puis cinq bains d'alcools, tel que cela est indiqué dans la fiche technique N°1.

Les préparations ainsi traitées sont finalement plongées dans de l'eau distillée, pendant 5 minutes à deux reprises afin de réaliser leur parfaite réhydratation.

La coloration des coupes est effectuée par un trempage de 3 minutes dans le mélange de Mallory (0,5g de bleu d'aniline, 2g d'Orange G, 1g d'acide phosphotungstique et 100 ml d'eau distillée. Enfin, on réalise un rinçage à l'eau distillée.

f. Déshydratation et montage des coupes

Avant de monter les coupes au baume de Canada, on procède par une déshydratation de ces coupes puis on les place dans un solvant du milieu de montage qui est le toluène. La déshydratation se fait comme suit :

- Deux bains d'alcool 70° de 30 mn chacun.
- Deux bains d'alcool 95° de 30 mn chacun.
- Deux bains d'alcool absolu de 30 mn chacun.
- Deux bains de 15mn chacun de toluène.

La lame est placée sur une platine chauffante, sur cette lame, on dépose une goutte de Baume de Canada, près des coupes. Ensuite, on applique délicatement la lamelle et on appuie faiblement sur cette dernière pour chasser l'excès de résines et les bulles d'air vers les bords.

les lames sont nettoyées avec du toluène et du papier hygiénique, puis elles sont déposées dans une étuve réglée à 40°C pendant 48 heures. La conservation des lames est illimitée.

g. Observation

Les observations des coupes sont réalisées à l'aide d'un microscope optique, en se basant sur les indications suivantes :

- Le noyau est coloré en rouge sombre.
- Le cytoplasme est coloré en rouge.
- Les fibres de collagène sont colorées en bleu intense.

3. Expression des résultats

Pour donner une signification à notre étude, Les résultats obtenus sont traités à l'aide du logiciel xlstat version 6 Pour chaque critère étudié, les intervalles de confiances ont été calculés.

Les effets des divers traitements ont été analysés par une analyse de la variance de xlstat suivie du test de Newman & Keuls par la comparaison multiple des moyennes.

Par ailleurs, l'efficacité des différentes doses sur la mortalité des individus de *Callosobruchus maculatus* est exprimée en pourcentage de mortalité qui est corrigé au moyen de la formule d'ABBOT (1925).

$$\% \text{ Mc} = \frac{\% \text{ M traité} - \% \text{ M témoin}}{100 - \% \text{ M témoin}} * 100$$

Mc : Mortalité corrigée (%).

% M traité = Mortalité enregistrée dans les lots traités (%).

% M témoin = Mortalité enregistrée chez le témoin.

Le pourcentage des mortalités corrigées est transformé en probit et sont représentés graphiquement en fonction des logarithmes des doses afin d'évaluer la dose létale 50 (DL50) ou, des logarithmes de temps pour estimer le temps létale.

CHAPITRE II : RESULTATS ET INTERPRETATIONS

1. Etude des paramètres biologiques de *Callosobruchus maculatus* sur graines entières de haricot et sur graines reconstituées de pois chiche

1.1. Etude sur graines entières

1.1.1. La fécondité

Les résultats mentionnés dans le tableau 5, nous permettent de relever une variabilité de la fécondité sur les différentes variétés de haricot.

Cette fécondité est considérable sur la variété Pinto avec 8,2 œufs / femelle, suivie par les deux variétés Terga et Cotender qui affichent respectivement une fécondité de 7,8 œufs / femelle et 7 œufs / femelle. Sur la variété S102, on note une fécondité moyenne de 5,04 œufs / femelle et en dernier lieu, on retrouve la variété sauvage *Phaseolus caracalla* avec une fécondité moyenne de 2,92 œufs / femelle.

Tableau 5: Influence des graines entières des cinq variétés de haricot sur la fécondité moyenne par femelle de *Callosobruchus maculatus* F.

JOURS	FECONDITE CUMULEE TOUS LES DEUX JOURS EN FONCTION DES VARIETES					
	V. témoin pois chiche	V.1 <i>Phaseolus caracalla</i>	V.2 S102	V.3 Pinto	V.4 Cotende	V.5 Terga
2 éme jour	18.88	2.04	3	4.84	4.08	4.4
4 éme jour	15.2	0.80	1.64	2.84	2.36	2.52
6 éme jour	12.76	0.08	0.40	0.52	0.52	0.84
8 éme jour	7.28	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04
10 éme jour	1.76	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12 éme jour	0.68	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14 éme jour	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16 éme jour	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fécondité moyenne par femelle	56.64 □ 5.48	2.92 □ 2.67	5.04 □ 2.95	8.2 □ 2.92	7 □ 2.91	7.8 □ 2.92

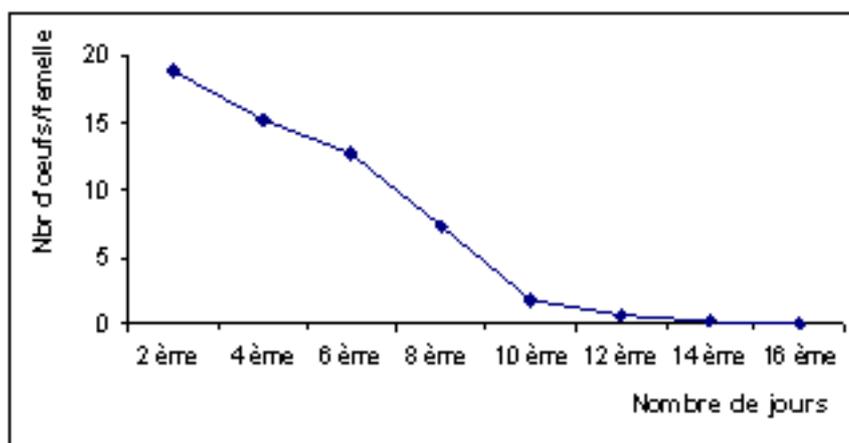


Figure 18 : Evolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de pois chiche –variété témoin.

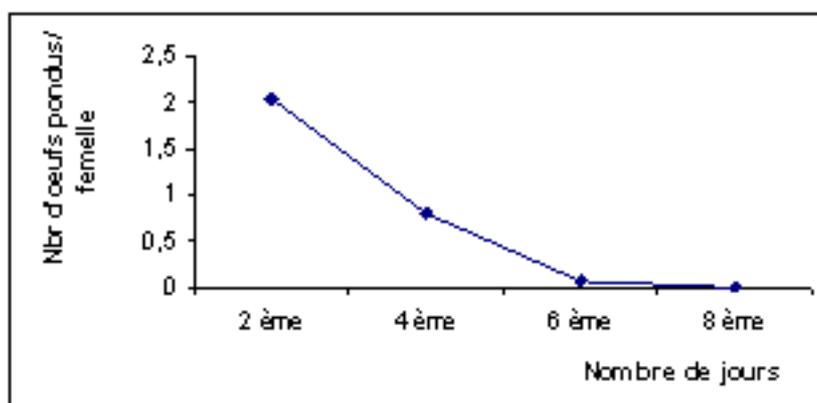


Figure 19 : Evolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété sauvage *Phaseolus caracalla*.

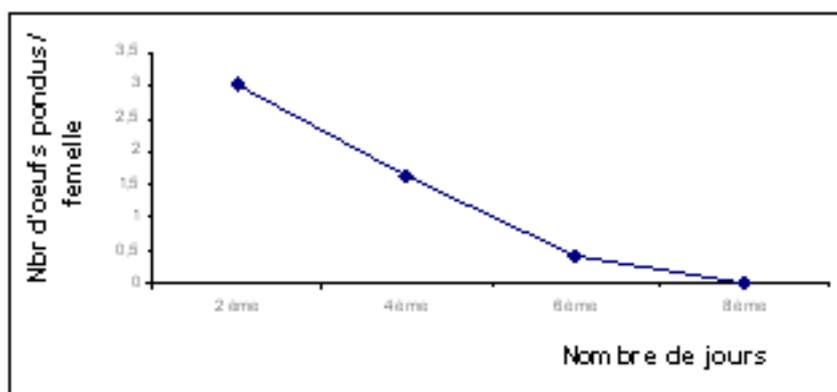


Figure 20 : Evolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété S102.

Débutant au deuxième jour, après l'accouplement des insectes, cette fécondité s'échelonne jusqu'au 6ème jour pour les variétés *Phaseolus caracalla*, S102 et Pinto et jusqu'au 8ème jour pour les variétés Cotender et Terga (Fig. : 19, 20, 21, 22 et 23).

Sur l'ensemble des variétés représentées, le maximum de ponte est observé au 2^{ème} jour avec 4,84 œufs / femelle sur la variété Pinto, avec 4,4 œufs / femelle sur Terga et 4,08 œufs / femelle sur Cotender. La S102 avec 3 œufs / femelle et enfin la variété sauvage *Phaseolus caracalla* avec une fécondité de 2,04 œufs / femelle.

Au 8^{ème} jour, la ponte est faible et identique sur les variétés Cotender et Terga soit un nombre d'œufs émis de 0,04 œufs / femelle.

Cependant, par rapport au pois chiche *Cicer arietinum*, qui affiche une fécondité moyenne de 56.64 œufs par femelle ; l'ensemble des variétés testées de haricot du genre *Phaseolus* présentent une faible fécondité soit 8,2 œuf / femelle entraînant une diminution de 14,47 % pour la variété Pinto, variété jugée la plus sensible aux attaques de *Callosobruchus maculatus*.

Parallèlement, une certaine variabilité de la fécondité est enregistrée sur les différentes variétés testées de haricot. Cette variabilité est considérable sur la variété Pinto avec 8,2 œufs / femelle. Les deux variétés Terga et Cotender affichent respectivement une fécondité moyenne de 7,8 œuf / femelle et 7 œufs / femelle.

Sur la variété S102, on note une fécondité moyenne de 5,04 œufs / femelle et en dernier lieu, la variété sauvage *Phaseolus caracalla* avec une fécondité moyenne de 2,92 œufs / femelle.

Débutant au deuxième jour, après l'accouplement des insectes ; cette fécondité s'échelonne jusqu'au 14^{ème} jour pour le pois chiche « variétés témoin » et jusqu'au 8^{ème} jour pour les variétés de haricot S102, Terga, Cotender et Pinto. Pour *Phaseolus caracalla*, la durée de ponte est de 6 jours.

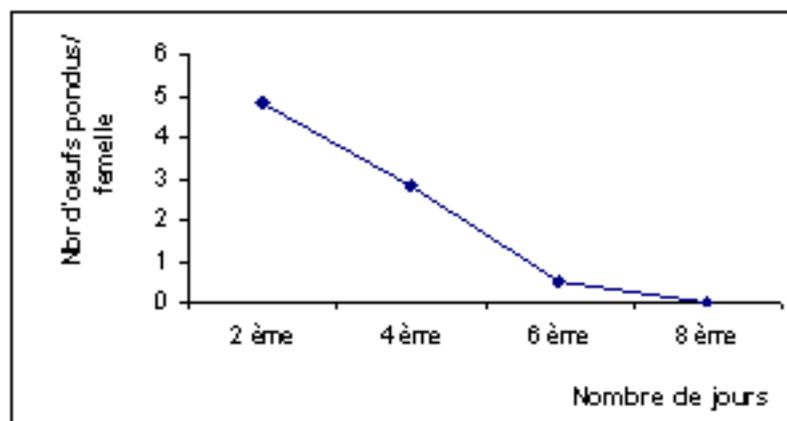


Figure 21 : Evolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété Pinto.

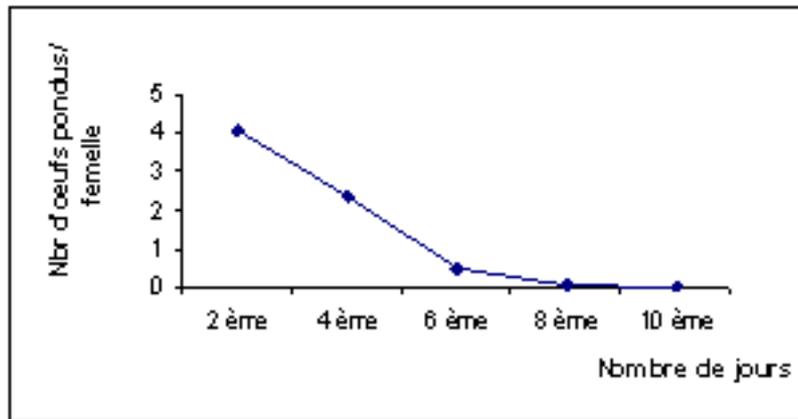


Figure 22: Evolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété Cotender.

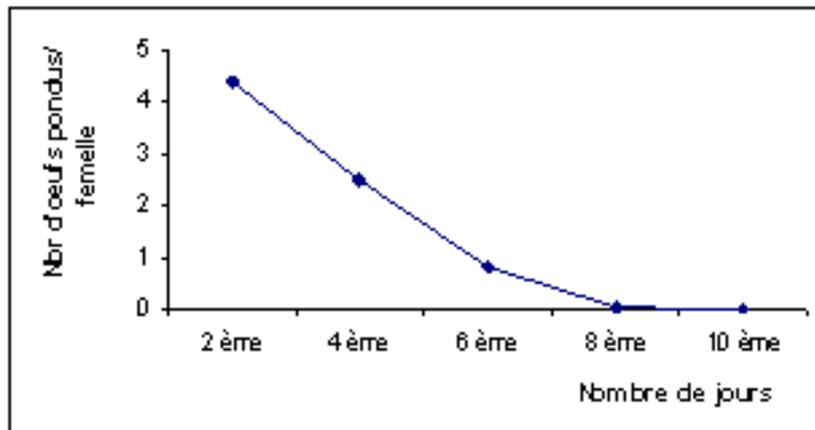


Figure 23 : Evolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété Terga.

Selon Lepesme (1944), les femelles de *Callosobruchus maculatus* F. préfèrent pondre sur des variétés à surfaces lisses. Seulement, les résultats obtenus au cours de notre expérimentation révèlent un taux nettement inférieur d'œufs émis quotidiennement par cette même espèce sur les variétés de haricot par rapport à celui obtenu sur pois chiche. Ceci nous amène à dire que l'aspect textural n'est pas le seul facteur dont dépend la ponte mais le choix repose sur la composition biochimique des graines.

De ce fait, le test de NEWMAN & KEULS au seuil de 5 % met en évidence l'apparition de trois groupes homogènes pour la fécondité des femelles de *C. maculatus*.

Source	ddl	S.C.M.	C.M.	F de Fischer	Pr > F	Modalités	Moyenne	G.H.
Modèle	5	267517.20	53503.44	249.20	< 0,0001	<i>P. caracalla</i>	14.60	A
Résidus	24	5152.80	214.70			S102	25.20	AB
Total	29	272670.00				Cotender	35.00	B
						Terga	39.00	B
						Pinto	41.00	B
						Témoin	283.20	C

Tableau 6: Analyse de la variance des résultats de l'évolution de la fécondité de *Callosobruchus maculatus* F. sur graines entières des variétés de Haricot.

Le groupe A est représenté par les deux variétés : *Phaseolus caracalla* et S102 avec des valeurs relativement basses respectives de 14,60 et 25,20.

La variété S102 est située dans un groupe intermédiaire entre les deux groupes A et B.

Le groupe B est formé par les variétés Cotender, Terga et Pinto avec des moyennes respectives de 35,00 ; 39,00 et 41,00.

Le groupe C représenté par la variété témoin (Pois chiche) se détache nettement avec une moyenne de 283,20.

D'après ces résultats, nous pouvons dire que les deux variétés *Phaseolus caracalla* et S102 paraissent moins favorables à la ponte de *Callosobruchus maculatus* F. car la ponte est nettement inférieure par rapport aux autres variétés testées.

1.1.2. La fertilité

Sur les graines entières de haricot testées, l'éclosion des œufs de *Callosobruchus* est nulle. De ce fait, le haricot ne semble pas être un substrat favorable à l'éclosion des œufs.

Le nombre élevé d'œufs par femelle non éclot montre que les graines de haricot sont dotées d'un potentiel entomotoxique due à la présence de substances telles que les lectines tronquées pourraient empêcher l'éclosion des œufs et le développement larvaire de cette espèce. En effet, Jansen et al., 1976, Gatehouse et Gatehouse, 1998 ont révélé des taux élevés en lectines empêchant le développement de *Callosobruchus maculatus* chez les espèces de légumineuses comme *Dolichos lablab* et *Rhycocea saucia*.

1.1.3. La longévité

Les résultats consignés dans le tableau 7 et les figures 24 et 25 montrent que quelle que soit la variété testée, la longévité moyenne varie de 2 à 6 jours pour les mâles et de 2 à 4 jours pour les femelles. Ainsi la durée de vie des mâles est supérieure à celle des femelles, ce qui est le contraire sur pois chiche. En effet, sur ce dernier, à une température de 30°C et une humidité de 70% ± 5%, la durée de vie des mâles est inférieure à celle des femelles de *Callosobruchus maculatus* et varie de 4 à 6 jours pour les mâles et de 5 à 6 jours pour les femelles (Karbache, 2000).

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

Sur graines entières de certaines variétés de pois chiche nouvellement introduites, Rezkallah (1998) a obtenue une longévité moyenne de 5 à 6 jours pour les femelles et de 3 à 4 jours pour les mâles dans les mêmes conditions de l'expérience citées ci-dessus.

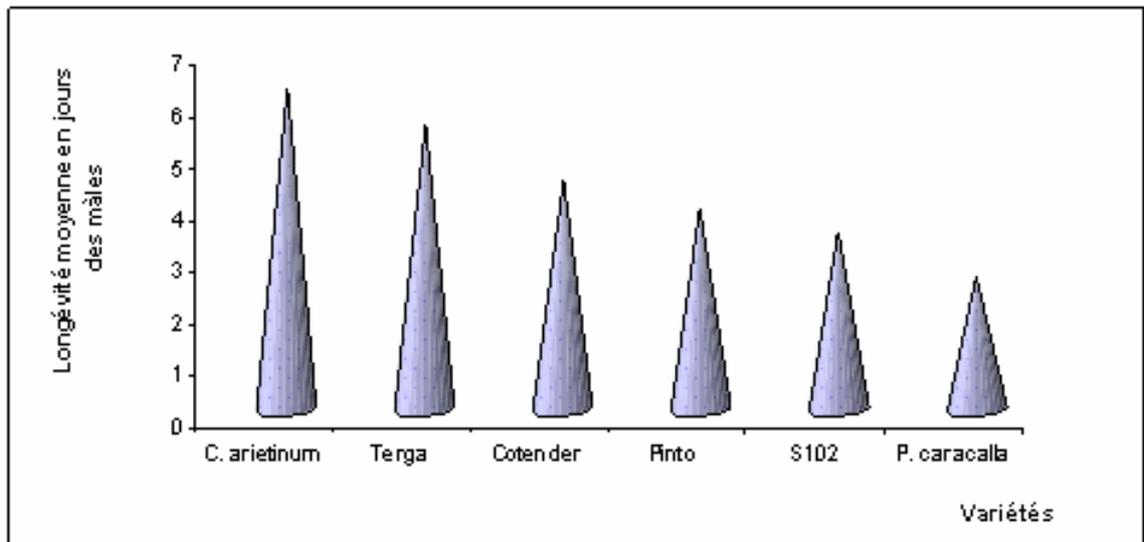


Figure 24: Longévité moyenne des mâles de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de cinq variétés de haricot.

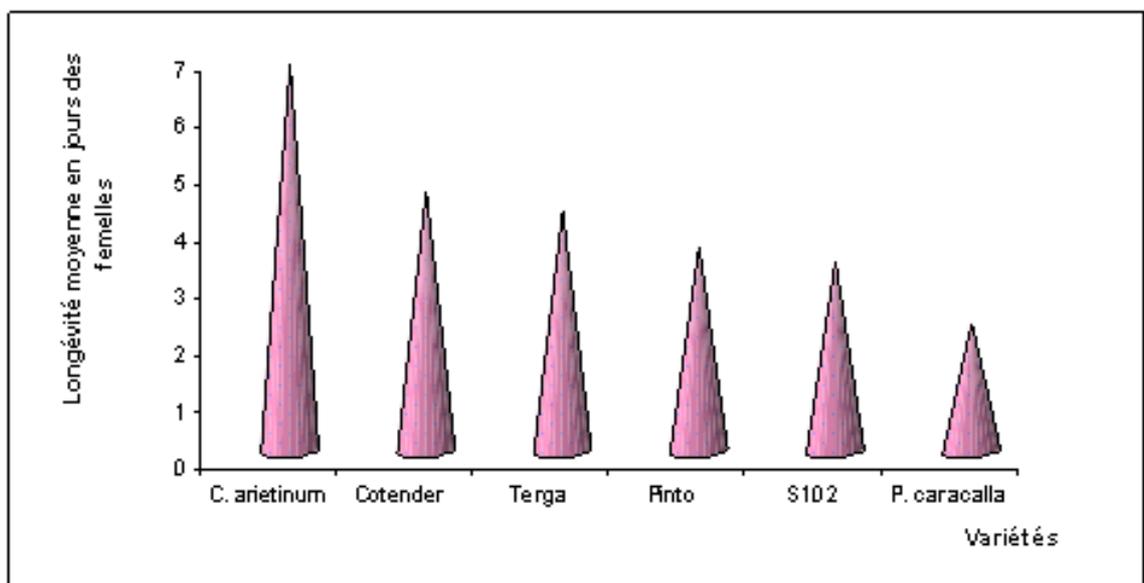


Figure 25: Longévité moyenne des femelles de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de cinq variétés de haricot.

Cependant, ces derniers restent toujours inférieurs à ceux obtenus par Khalfi (1983), qui affiche une longévité moyenne des femelles de 8.5 jours et celle des mâles à 7.3 jours à une température de 28°C et une hygrométrie de 40% ± 5%. Cette différence est surtout liée aux conditions expérimentales.

Tableau 7: Longévité moyenne des mâles et des femelles de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières des cinq variétés de haricot et sur *Cicer arietinum*.

Variétés	Longévité moyenne en jours des mâles	Longévité moyenne en jours des femelles
Phaseolus caracalla	2,6 ± 0.10	2,28 ± 0.09
S102	3,48 ± 0.23	3,36 ± 0.12
Pinto	3,88 ± 0.04	3,6 ± 0.08
Cotender	4,44 ± 0.07	4,6 ± 0.13
Terga	5,52 ± 0.18	4,24 ± 0.17
<i>Cicer arietinum</i>	6.22 ± 0.23	6.82 ± 0.30

1.1.4. La mortalité

Dans tous les essais, le dénombrement des insectes morts est réalisé quotidiennement après l'exposition de ces derniers aux différentes variétés de haricot testées.

Ce tableau montre que pour les cinq variétés de haricot testées, les mortalités enregistrées après 72 heures sont élevées, nous avons noté 75,51 % pour *Phaseolus caracalla*, 55,10 % pour la S102, 32,65 % pour Pinto, 26,53 % pour Cotender et enfin 22,44 % pour la variété locale Terga.

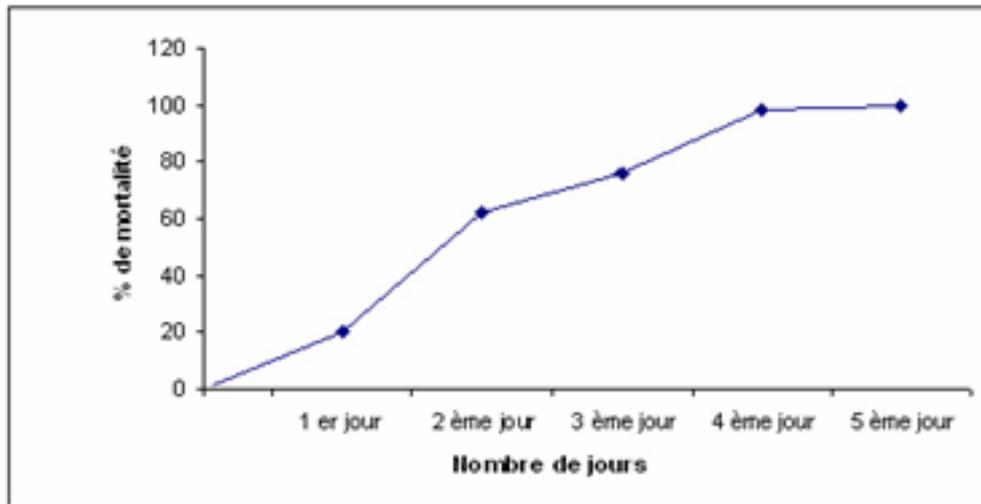


Figure 26 : Evolution de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété *Phaseolus caracalla*.

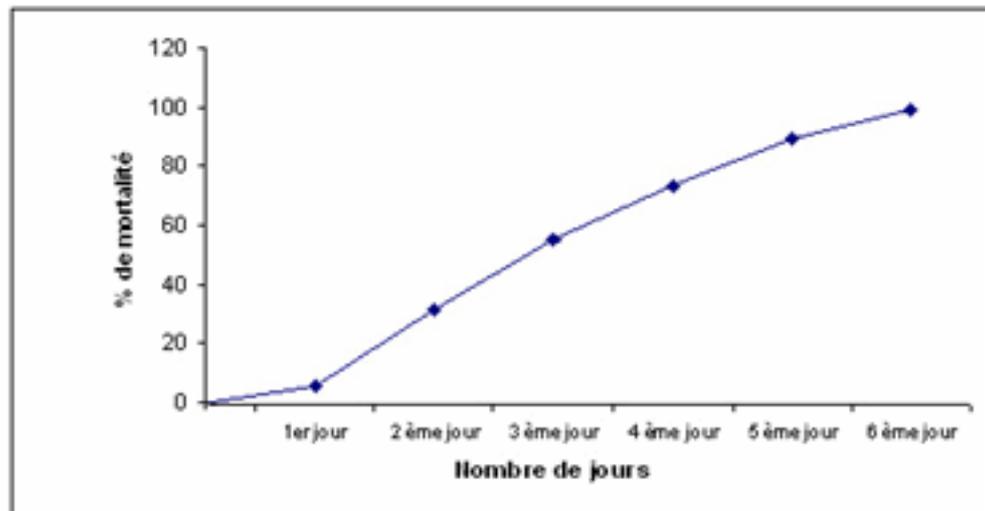


Figure 27 : Evolution de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété S102.

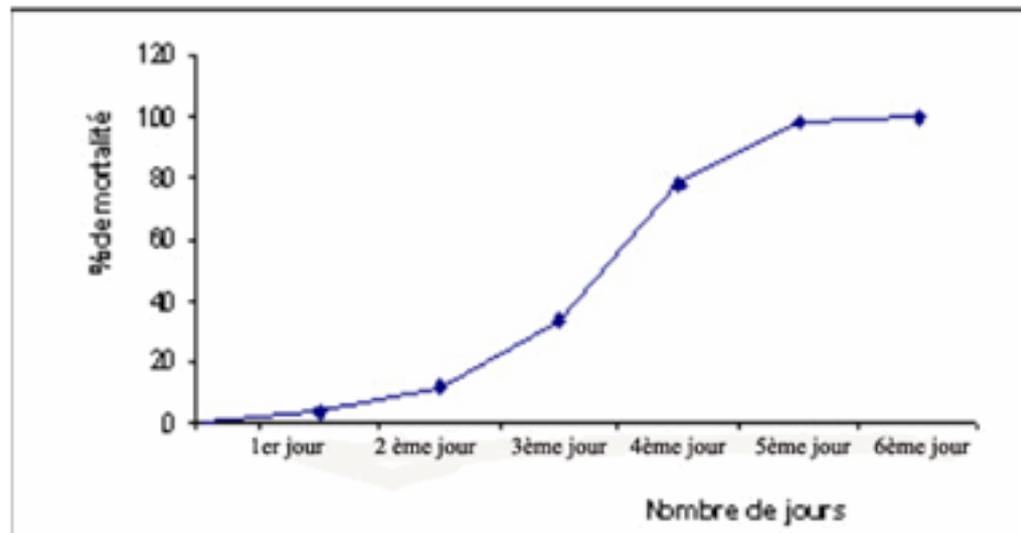


Figure 28: Evolution de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété Pinto.

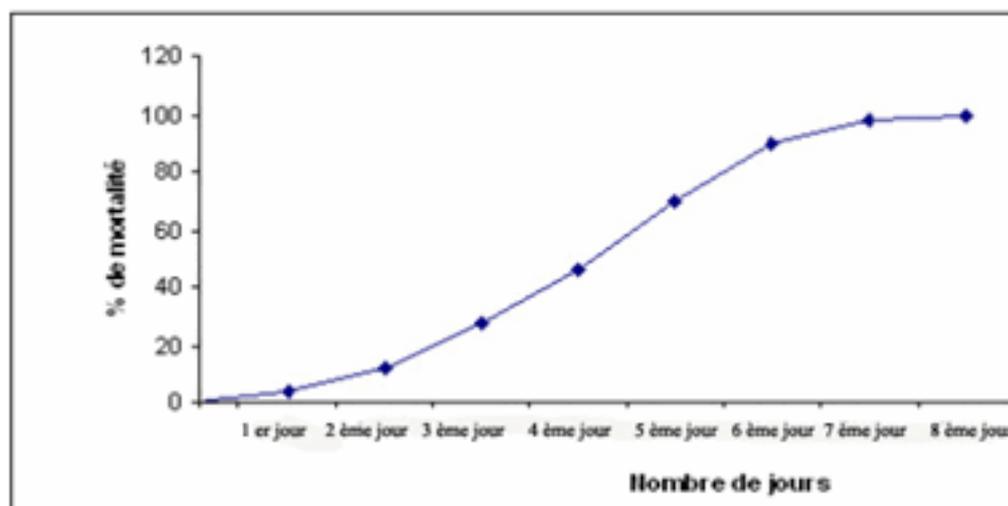


Figure 29 : Evolution de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété Cotender.

Les figures 26, 27, 28, 29, 30 et 31 montrent que la létalité augmente nettement après le 3^{ème} jour et est totale au 5^{ème} jour pour *P. caracalla*, au 6^{ème} jour pour la S102 et Pinto. Au 9^{ème} jour pour Cotender et enfin au 10^{ème} jour pour la variété Terga. Ce pourcentage est de 2 % sur *Cicer arietinum*.

Tableau 8: Influence des graines entières des cinq variétés de haricot sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus* au 3^{ème} jour.

Variétés	<i>Phaseolus ecaracalla</i>		S 102		Pinto		Cotender		Terga		Témoin
	M.M.	% M.C.	M.M.	% M.C.	M.M.	% M.C.	M.M.	% M.C.	M.M.	% M.C.	
Mortalité des adultes	0,76	75,51	0,56	55,10	0,34	32,65	0,28	26,53	0,24	22,44	2

Les tests biologiques concernant l'activité entomotoxique des variétés de haricot mesurée par le taux de mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* montrent que sur graines entières, les cinq variétés de haricot ont un effet sur la mortalité de cette espèce. Cependant, le calcul du pourcentage de mortalité corrigée nous permet d'établir le classement suivant :

1. Phaseolus Caracalla.
2. S102.
3. Pinto.
4. Cotender.
5. Terga.

Le test de NEWMAN et KEULS montre qu'avec *P. caracalla* et S102, le taux de mortalité est significativement plus élevé que ceux obtenus dans le témoin, Terga, Pinto et Cotender. Ainsi, l'ensemble des variétés testées, appartiennent à trois groupes homogènes à savoir : le groupe A représenté par le pois chiche (témoin). Le groupe B renfermant les variétés Terga, Pinto et Cotender. Enfin, le groupe C qui comprend *P. caracalla* et la S102.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

Source	ddl	S.C.M.	C.M.	F de Fischer	Pr > F	Modalités	Moyenne	G.H.
Modèle	5	15.50	3.10	1.329	0.0001	Témoin	0.20	A
Résidus	24	56.00	2.33			Terga	1.20	B
Total	29	71.00				Pinto	1.40	B
						Cotender	1.60	B
						S102	2.60	C
						<i>P. caracalla</i>	3.20	C

Tableau 9: Analyse de la variance des résultats de l'effet des graines entières des cinq variétés de haricot sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus* F.

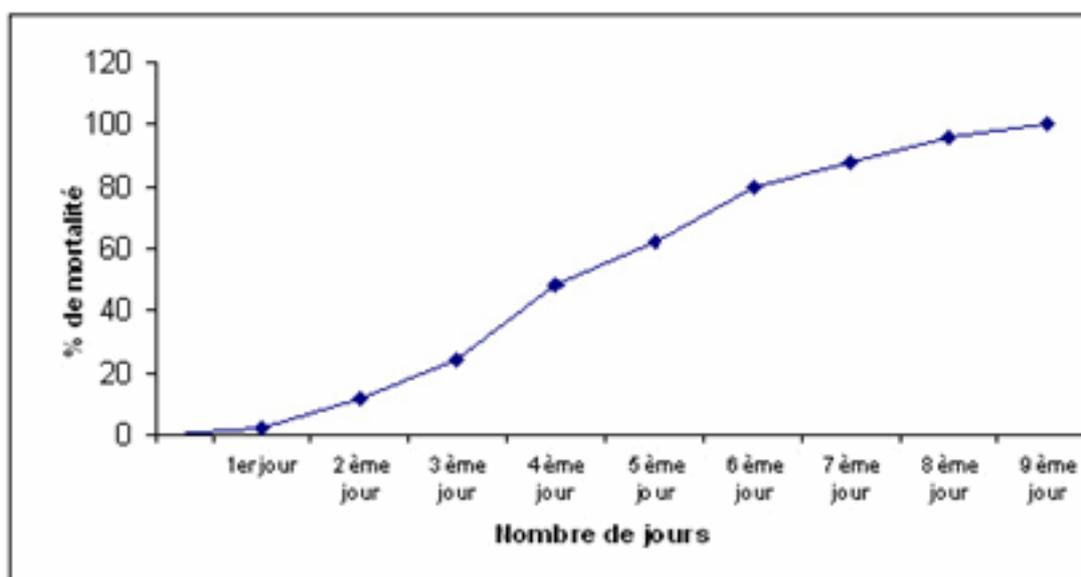


Figure 30 : Evolution de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières de la variété Terga.

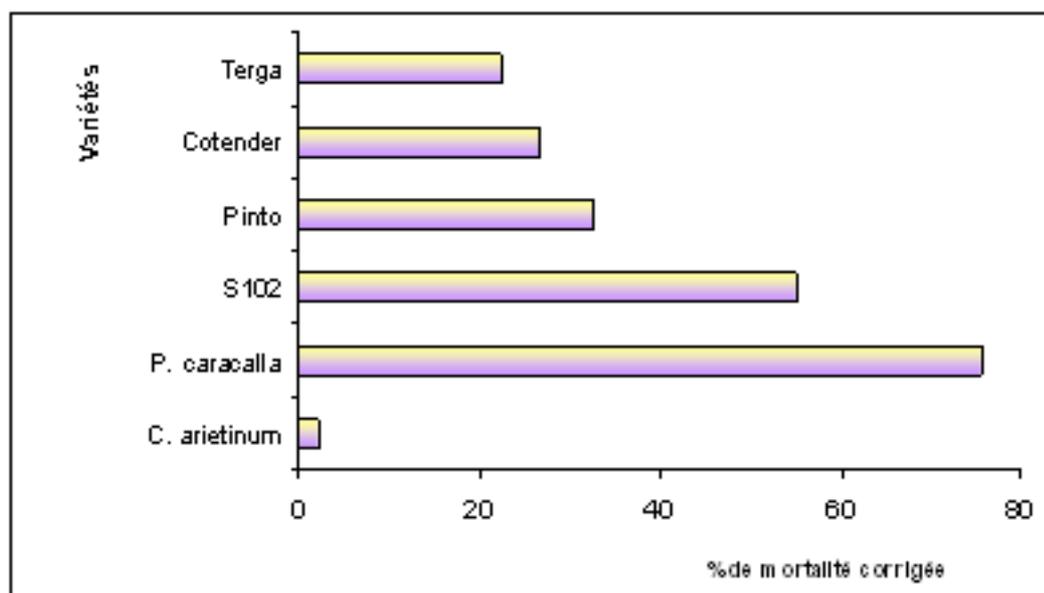


Figure 31 : Evolution de la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* sur les graines entières des cinq variétés de haricot.

1.2. Etude sur graines reconstituées

1.2.1. La fécondité

Les résultats de nos essais consignés dans le tableau 10 montrent que toutes les variétés haricot testées à différentes doses affectent clairement la fécondité de *Callosobruchus maculatus*. En effet, le taux d'œufs émis par femelle est nettement inférieur à celui obtenu chez le témoin « pois chiche commercial » à la dose 1 (10 %) soit une diminution de 48,44 œufs / femelle pour la variété sauvage *Phaseolus caracalla*, suivie par la S102 avec une différence de 40,96 œufs / femelle et Cotender avec 30,12 œufs / femelle.

Pour les variétés Terga et Pinto, cette différence est largement similaire avec respectivement 25,68 œufs / femelle et 24,92 œufs / femelle.

Tableau 10 : Influence des cinq variétés de haricot étudiées sur graines reconstituées de pois chiche sur la fécondité moyenne par femelle de *Callosobruchus maculatus* F.

Doses	Variétés de haricot				
	<i>P. caracalla</i>	S102	Pinto	Cotender	Terga
Dose 0	52,04 ± 7,06	52,04 ± 7,06	52,04 ± 7,06	52,04 ± 7,06	52,04 ± 7,06
Dose 1	3,60 ± 0,88	4,72 ± 1,14	12,56 ± 2,49	12,52 ± 2,32	13,60 ± 2,63
Dose 2	2,76 ± 0,53	4,00 ± 1,02	6,76 ± 1,44	8,60 ± 1,90	11,80 ± 2,27
Dose 3	1,24 ± 0,32	3,00 ± 0,72	5,12 ± 1,15	6,24 ± 1,34	8,48 ± 1,54
Dose 4	0,40 ± 0,10	0,72 ± 0,20	1,72 ± 0,45	3,52 ± 0,76	5,56 ± 0,82
Dose 5	0,36 ± 0,09	0,56 ± 0,17	0,68 ± 0,15	1,20 ± 0,26	2,24 ± 0,43

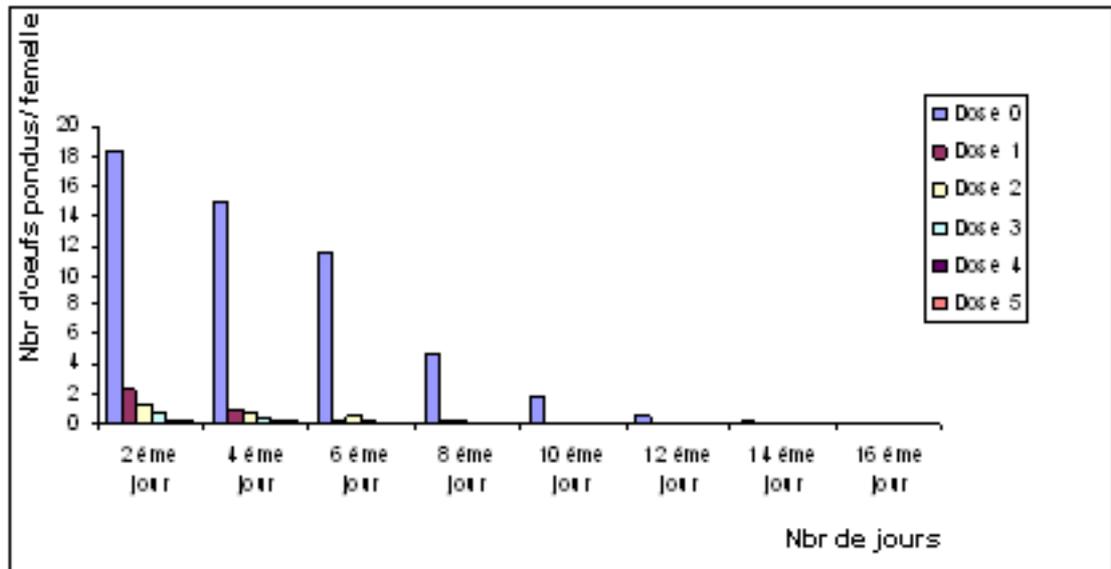


Figure 32 : Effet dose de *Phaseolus caracalla* sur l'évolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus*.

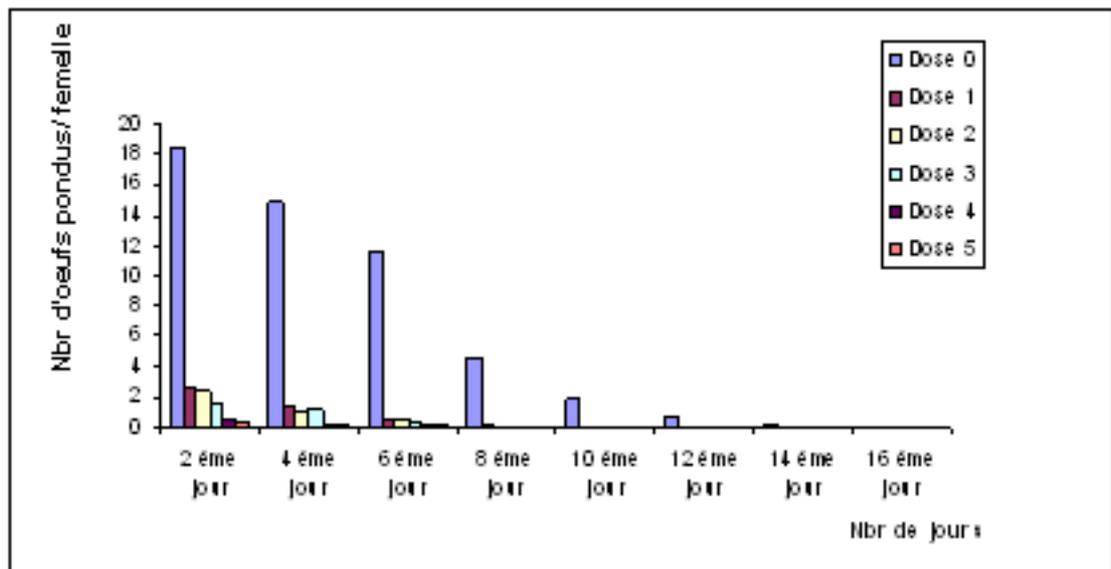


Figure 33 : Effet dose de variété S102 sur l'évolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus*

Par ailleurs, pour l'ensemble des variétés de haricot étudiées sur graines reconstituées, nous constatons que la fécondité moyenne par femelle de *C. maculatus* la plus élevée est observée avec la plus faible dose (10 %). Celle-ci diminue à chaque fois que la dose augmente de (10 à 100 %).

Ces résultats montrent que les doses les plus efficaces contre *C. maculatus* sont la D3, D4 et D5. Ces dernières témoignent l'effet engendré par les farines des différentes variétés haricot traduit par une diminution du nombre d'œufs émis sur ces graines reconstituées.

En effet, les figures 32, 33, 34, 35 et 36 montrent qu'aucun œuf n'est pondu sur les graines enrichies en farine de haricot au 16ème jour pour l'ensemble des variétés excepté

la variété sauvage de haricot *P. caracalla* et la variété S102 où l'oviposition s'arrête au 10^{ème} jour.

L'analyse de la variance de l'étude de la fécondité de *C. maculatus* sur les cinq variétés de haricot étudiées sur graines reconstituées de pois chiche montre à une probabilité inférieure à 0.05 une différence hautement significative par rapport au témoin. Ceci aux différentes doses testées.

Source	ddl	S.C.M	C.M	F de Fischer	Pr > F
Modèle	9	809537,12	89948,57	224,68	< 0,0001
Résidus	140	56047,41	400,33		
Total	149	865584,54			

Tableau 11 : Analyse de la variance des résultats de l'évolution de la fécondité de *Callosobruchus maculatus* F. sur les cinq variétés de haricot à graines reconstituées.

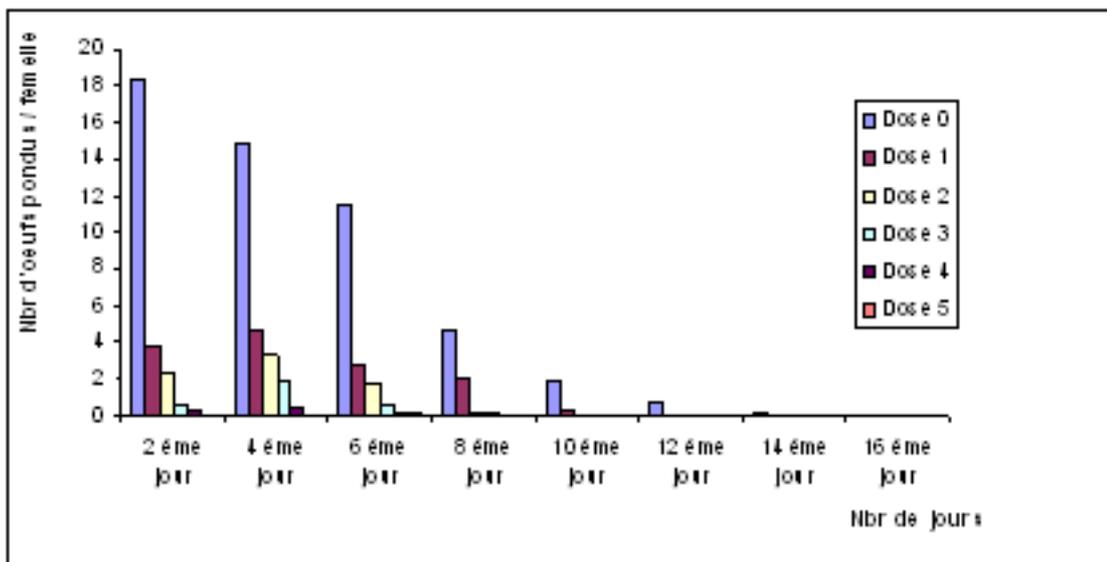


Figure 34 : Effet dose de Pinto sur l'évolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus*.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

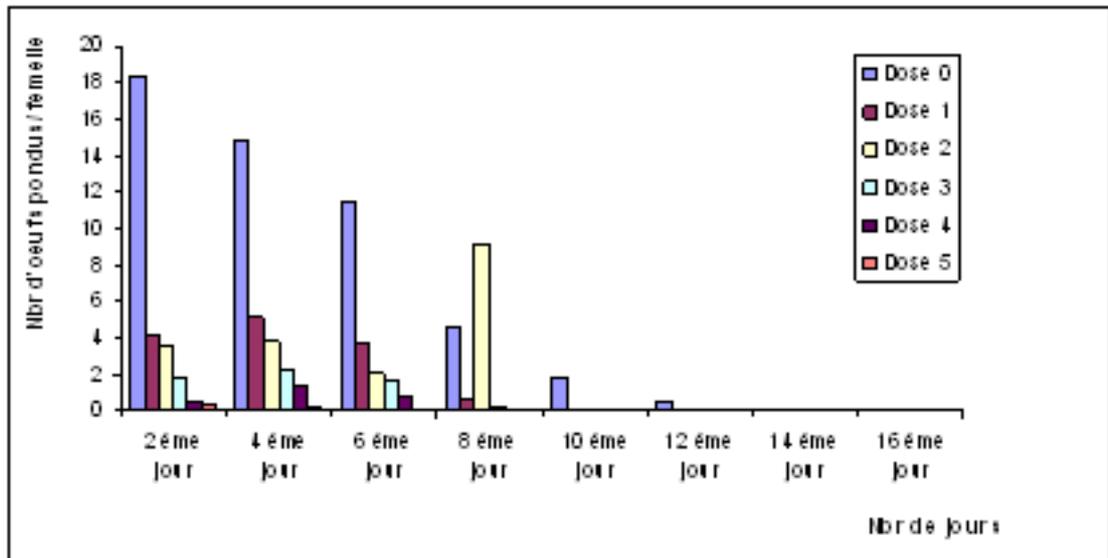


Figure 35 : Effet dose de variété *Cotenders* sur l'évolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus*.

Pour le facteur variété, le test de NEWMAN et KEULS attribue l'ensemble des variétés testées de haricot à un seul groupe homogène.

En ce qui concerne le facteur dose, la D5 et la D4 sont les plus efficaces rassemblées en un seul groupe A, la D3 et la D2 sont dans le groupe B. La D1 et la D0 appartiennent respectivement aux groupes C et D.

L'observation essentielle qui ressort de ce test est que les graines de pois chiche reconstituées enrichies en farine de haricot contiennent des composants biochimiques qui agissent négativement sur la fécondité des femelles de *C. maculatus*.

En effet, pendant la maturation des graines de légumineuses, des substances de protection sont élaborées entre autre les lectines chez le haricot. De ce fait, par la spécificité de ces dernières chez les légumineuses, les larves d'une espèce de bruches ne consomment généralement que les graines d'une espèce déterminée de plante.

De ces résultats, nous remarquons que les lectines tronquées affectent sérieusement la fécondité de *C. maculatus* contrairement au témoin qui s'avère sensible aux attaques de cette espèce. Ceci implique que ces lectines tronquées sont étroitement liées aux mécanismes de défense des graines de haricot.

A la D1, les variétés *Phaseolus caracalla* et S102, affichent un nombre insignifiant d'œufs émis par femelle par rapport au nombre d'œufs émis sur les autres variétés, donc ces deux variétés semblent contenir des teneurs élevées de substances entomotoxique par rapport aux autres variétés face aux attaques de la bruche du pois chiche *C. maculatus*.

Selon Goossens & al. (2000), avec des niveaux plus bas ; de l'ordre de 5 % d'isolat de glycoprotéine, aucun effet significatif n'est obtenu.

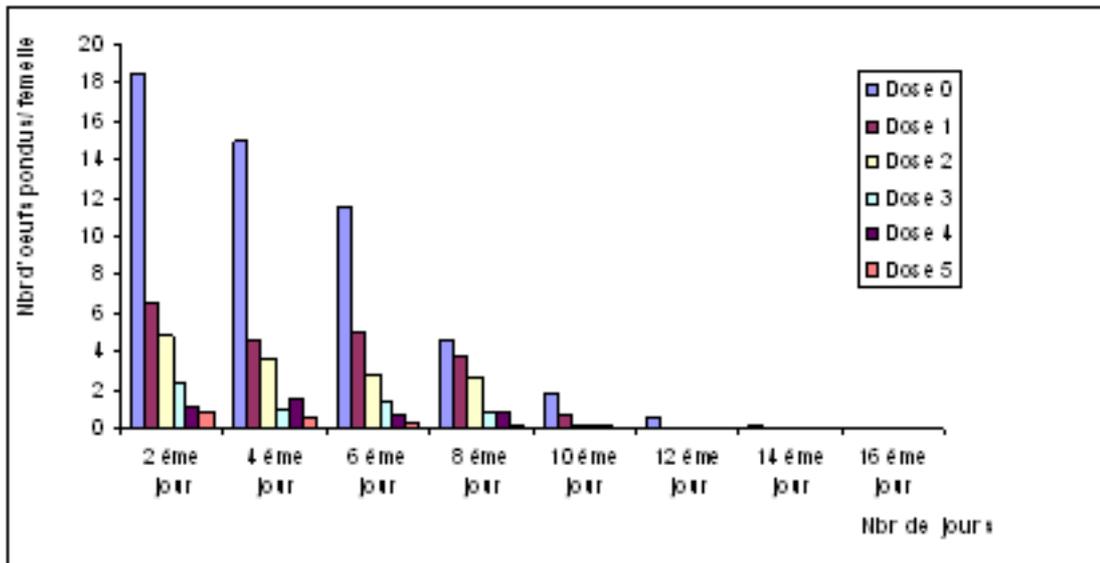


Figure 36 : Effet dose de variété Tergasur l'évolution temporelle de la fécondité cumulée tous les deux jours de *Callosobruchus maculatus*.

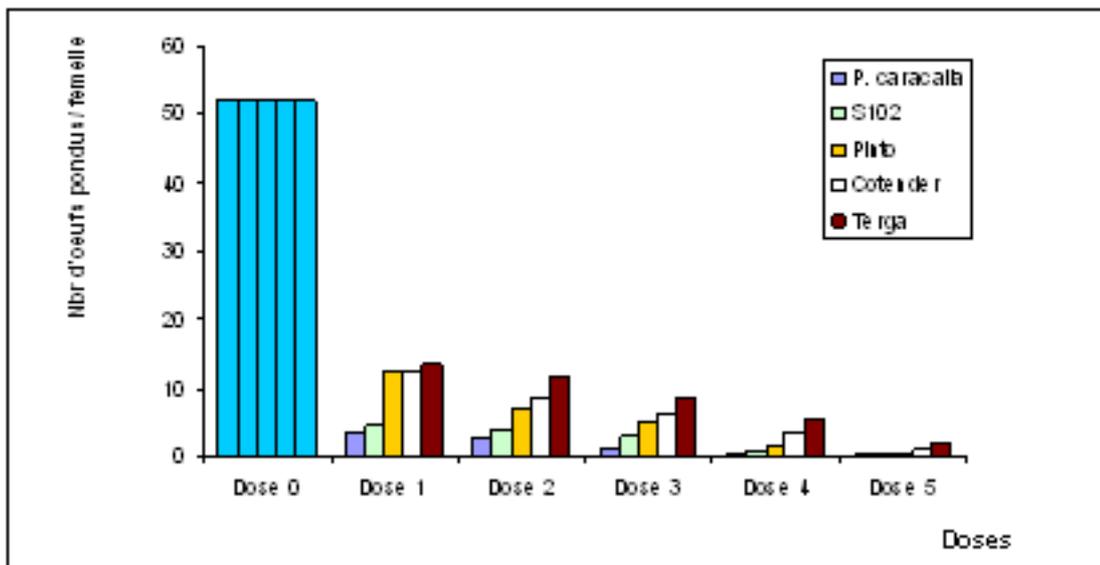


Figure 37 : Effet dose des cinq variétés de haricot sur la fécondité de *Callosobruchus maculatus* F.étudiée sur graines reconstituées de pois chiche.

1.2.2. La fertilité

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 12, nous remarquons que le maximum d'émergence est observé sur le témoin soit 97.33 % (graines reconstituées composées de 100 % de farine de pois chiche).

Tableau 12: Effet des doses des cinq variétés de haricot sur le pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus* étudié sur graines reconstituées de pois chiche.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

Doses	Variétés de haricot.				
	<i>Phaseolus caracalla</i>	S102	Pinto	Cotender	Terga
D0= Témoin	97,33 %	97,33 %	97,33 %	97,33 %	97,33 %
D1 (10%)	28,00 %	45,33 %	60,00 %	67,33 %	80,66 %
D2 (20%)	12,00 %	16,66 %	48,66 %	56,66 %	62,00 %
D3 (40%)	0,00 %	6,66 %	29,33 %	32,66 %	40,00 %
D4 (80%)	0,00 %	0,00 %	0,00 %	10,66 %	22,00 %
D5 (100%)	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %

Les cinq variétés de haricot introduites isolément sous forme de farine à différentes doses (10%, 20%, 40%, 80% et 100%) dans les graines reconstituées de pois chiches ont permis une diminution proportionnelle du taux d'émergence à l'augmentation des doses. Ce taux s'annule pour la dose 100 % (Fig 38, 39, 40, 41, 42 et 43) quelque soit la variété de haricot étudiée et dès la dose D3 (40) pour *Phaseolus caracalla* et D4 (80%) pour la S102.

A la dose D1, la variété *Phaseolus caracalla* a inscrit une diminution de 60 % par rapport au témoin. Cette diminution est de 50% pour la S102 ; de 40% pour Pinto ; de 30 % pour Cotender et 17 % pour la variété Terga.

Ainsi, à la dose 20 %, nous avons obtenu un pourcentage moyen d'émergence de 12 % avec la variété *Phaseolus caracalla*. Suivie par la S102 « variété Brésilienne de haricot noir avec un pourcentage d'émergence moyen de 16,66 %.

Les autres variétés de haricot ont affiché des pourcentages moyens d'émergences assez proches et sont de 48,66 % sur Pinto, 56,66 % sur Cotender et de 62 % sur Terga.

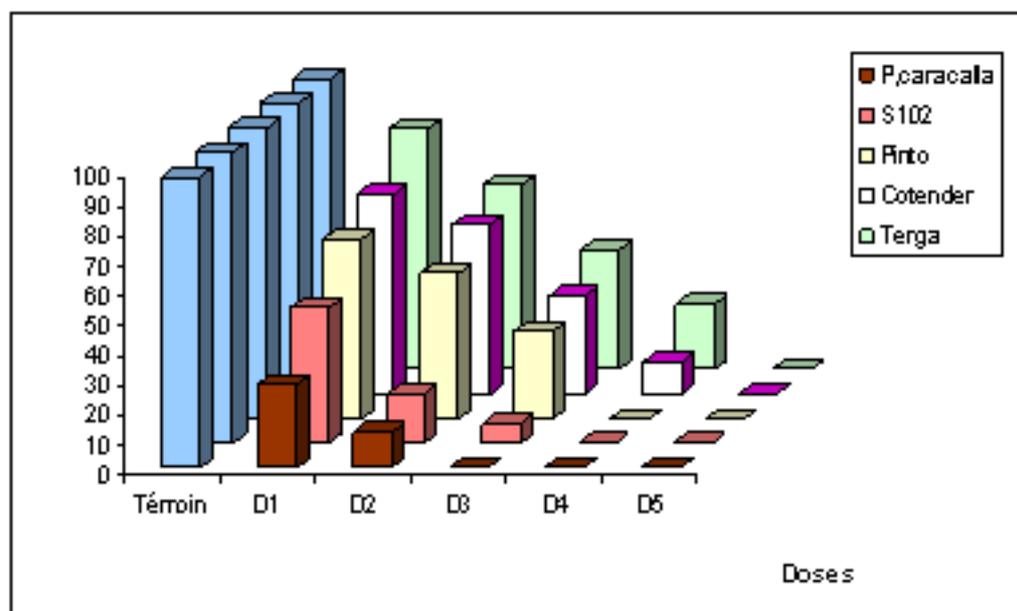


Figure 38 : Pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus* sur les cinq variétés de haricot testées aux différentes doses étudiées sur graines reconstituées de pois chiche.

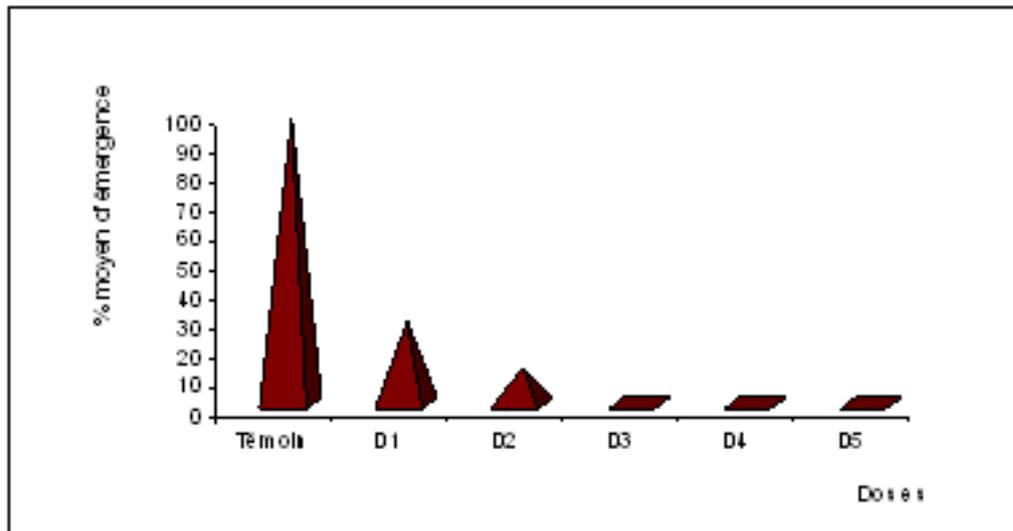


Figure 39 : Effet des doses de la variété sauvage *Phaseolus caracalla* sur le pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus* mené sur graines reconstituées de pois chiche.

Sur la variété sauvage *P. caracalla*, à la dose 3 (40 %), aucune émergence n'a été observée. Sur les autres variétés de haricot, ce pourcentage a considérablement diminué par rapport aux résultats obtenus avec la dose 1 (10 %). Ainsi, à 40% on note un pourcentage moyen d'émergence de 6,66 % sur la S102 suivie par Pinto et Cotender qui présentent des pourcentages moyens d'émergence assez proches et sont respectivement de 29,33 % et 32,66 %. Enfin, la variété Terga affiche un pourcentage d'émergence de 40 %.

A la dose 4 (80 %), le pourcentage d'émergence moyen est observé que sur les variétés Cotender et Terga avec des valeurs respectives de 10,66 % et 22 %.

Enfin, à la dose 5 (100 %), les émergences sont nulles sur toutes les variétés de haricot testées.

De ce fait, nous pouvons dire qu'il soit sous forme de graines entières ou reconstituées de pois chiche, le haricot offre des conditions défavorables au bon développement des larves et à l'émergence des adultes de *Callosobruchus maculatus*. La dureté du tégument de la graine n'est pas à l'origine de l'absence du développement de *C. maculatus* sur graines de haricot.

Source	ddl	S.C.M	C.M	F de Fischer	Pr > F
Modèle	9	139332,62	1548,07	113,32	< 0,0001
Résidus	140	1912,46	13,66		
Total	149	15845,09			

Tableau 13 : Analyse de la variance des résultats de l'influence des variétés de haricot sur l'émergence de *Callosobruchus maculatus* F.

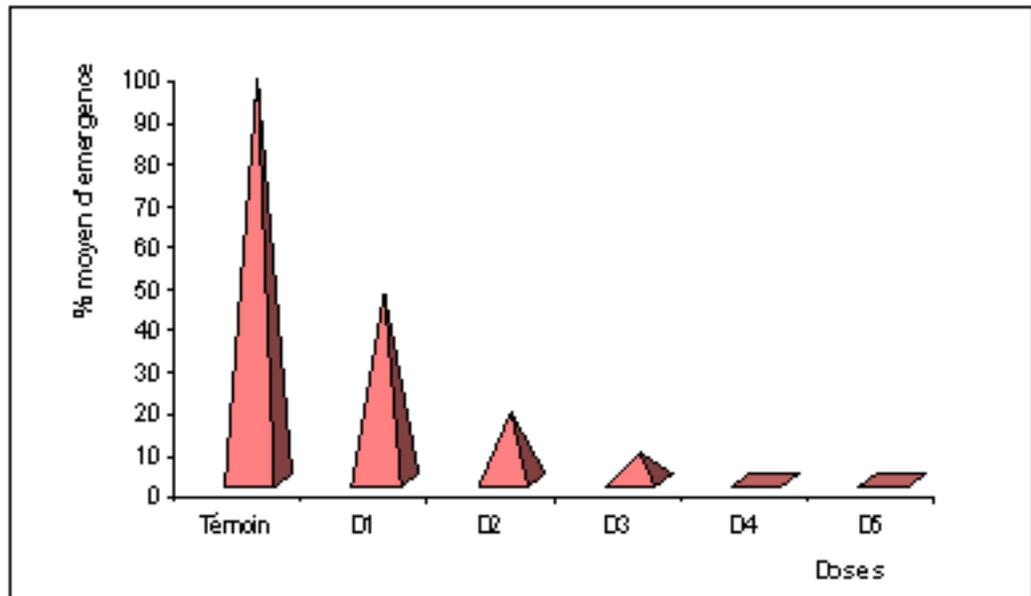


Figure 40: Effet des doses de la variété S102 sur le pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus*.

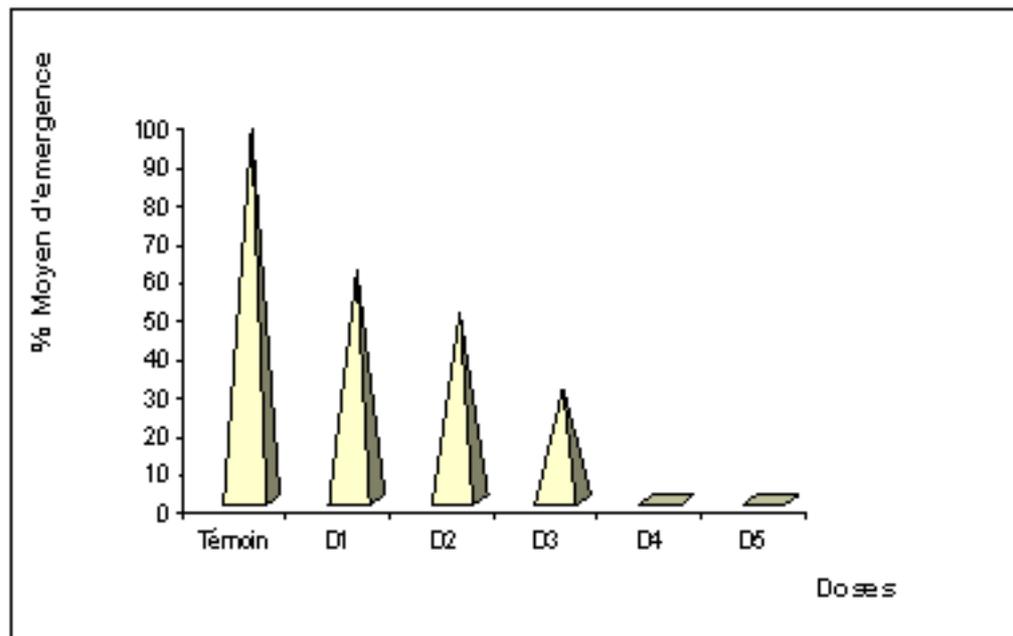


Figure 41 : Effet des doses de la variété Pinto sur le pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus*.

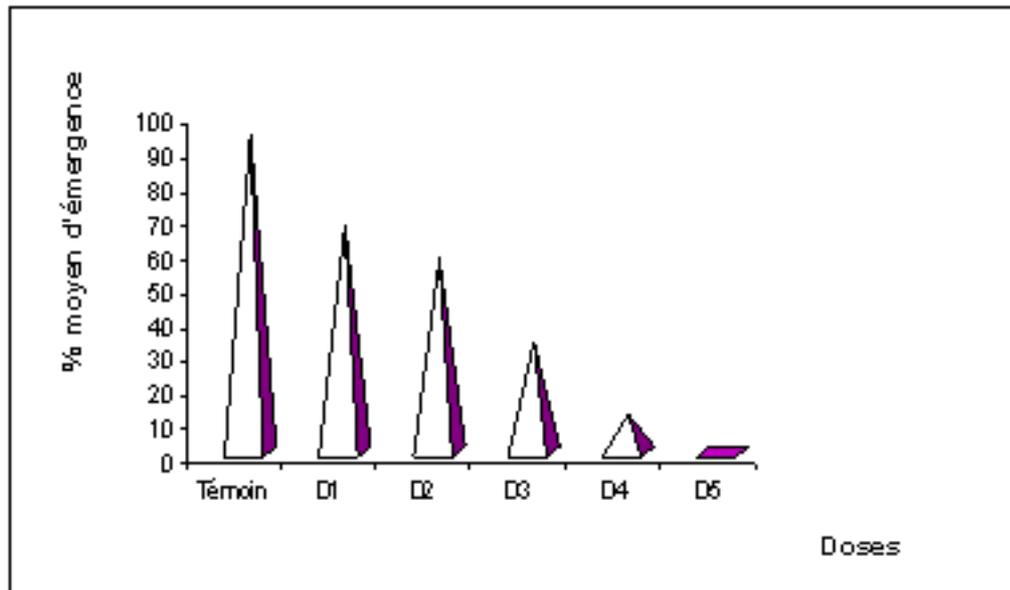


Figure 42 : Effet des doses de la variété Cotender sur le pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus*.

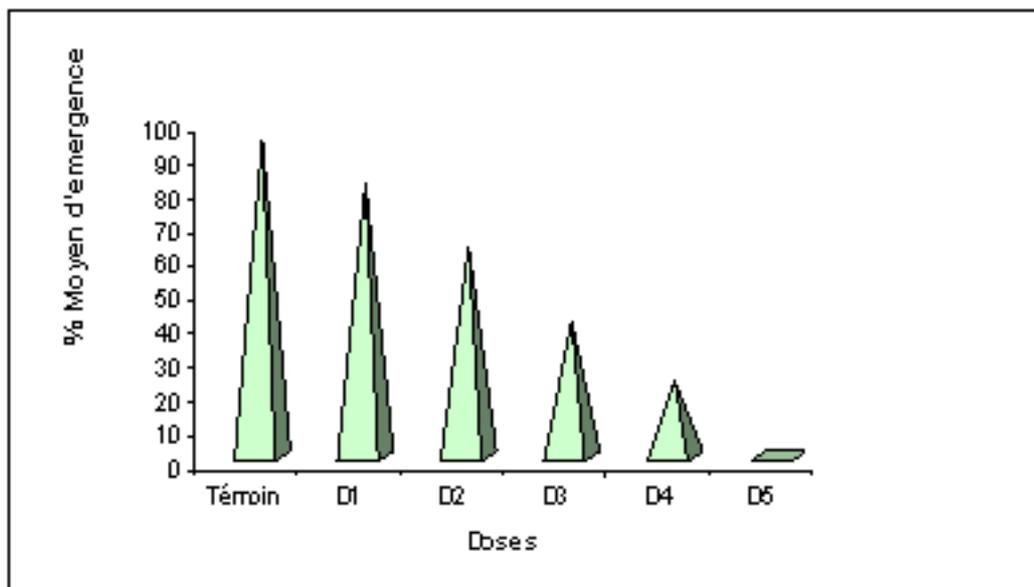


Figure 43 : Effet des doses de la variété Terga sur le pourcentage moyen d'émergence de *Callosobruchus maculatus*.

Nous remarquons d'après le tableau 13 que l'analyse statistique montre que l'effet dose sur l'émergence des adultes de *Callosobruchus maculatus* est très hautement significatif au seuil de probabilité égale à 0,0001.

Le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5 %, montre que le pourcentage moyen d'émergence obtenu avec la variété sauvage de haricot *Phaseolus caracalla* est le plus faible, il est significativement réduit par rapport au témoin à la dose 1 (10 %).

Par ailleurs, ce test fait apparaître cinq moyennes pour le facteur dose. Le groupe A représenté par la D5 avec une moyenne de 0,00 et la dose D4 avec 1,96. Le groupe B renferme la D3 qui affiche une moyenne de 6,52.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

Les doses D2, D1 et D0, aux moyennes respectives de 11,76, 16,88 et 26,64 appartiennent aux groupements respectifs C, D et E.

L'observation essentielle qui ressort de ce test est que la variété *Phaseolus caracalla* paraît la plus résistante car elle possède un milieu défavorable à l'éclosion des œufs de *C. maculatus* ainsi qu'au développement de ces larves. Ceci est dû à la composition biochimique du haricot. En effet, plusieurs auteurs confirment que le haricot contient des protéines de stockage en l'occurrence les lectines tronquées qui lui confèrent une certaine défense face aux attaques de bruches (Chrispeels et Raikhel, 1991 ; Hamelryck et al., 1996 ; Cordeiro et al., 2000 et Goossens et al., 2000). Ces protéines entomotoxiques, constituent un milieu défavorable à l'éclosion des œufs et au développement larvaire de cette espèce une fois introduite dans les graines de pois chiche. Parmi ces protéines entomotoxiques, nous citons les lectines qui sont associées aux mécanismes de défense des graines et réduisent ainsi de manière significative le développement larvaire des *bruchidae*.

Au cours de notre expérimentation, nous avons observé une diminution de 50 % du poids des femelles et des mâles témoins qui est respectivement de 0.00572 g et 0.00451g, ce qui pourrait par conséquent affecter indirectement la fertilité.



Figure 44 : adulte témoin de *C. maculatus*



Figure 45 : adulte chétif de *C. maculatus* élevé sur graines reconstituées

1.2.3. Longévité

Tableau 14: Effet des cinq variétés de haricot étudiées sur graines reconstituées de pois chiche sur la Longévité moyenne en jours des mâles de *Callosobruchus maculatus* F.

Doses	<i>Phaseolus caracalla</i> .	S102	Pinto	Cotender	Terga
D0 (100% de farine de pois chiche).	7,04 ± 0,12	7,04 ± 0,12	7,04 ± 0,12	7,04 ± 0,12	7,04 ± 0,12
D1 = 10 %	3,96 ± 0,12	4,80 ± 0,08	6,40 ± 0,24	6,16 ± 0,15	6,96 ± 0,16
D2 = 20 %	3,56 ± 0,19	4,16 ± 0,17	5,44 ± 0,09	5,40 ± 0,16	6,52 ± 0,11
D3 = 40 %	2,88 ± 0,08	3,68 ± 0,19	4,96 ± 0,19	4,88 ± 0,07	6,00 ± 0,16
D4 = 80 %	2,60 ± 0,11	3,36 ± 0,18	3,60 ± 0,12	4,28 ± 0,1	5,60 ± 0,14
D5 = 100 %	2,20 ± 0,06	2,52 ± 0,10	3,08 ± 0,09	5,84 ± 0,13	5,28 ± 0,20

Les résultats consignés dans les tableaux 14 et 15 montrent que pour l'ensemble des variétés testées, la longévité moyenne des mâles de *Callosobruchus maculatus* varie de 4 à 6 jours pour la D1 (10 %) et la D2 (20 %).

Pour la D3 (40 %), la longévité moyenne varie de 2 à 6 jours. Cette dernière varie de 2 à 5 jours pour les deux doses D4 et D5.

Tableau 15: Effet des cinq variétés de haricot étudiées sur graines reconstituées de pois chiche sur la Longévité moyenne en jours des femelles de *Callosobruchus maculatus* F.

Doses	<i>Phaseolus caracalla</i> .	S102	Pinto	Cotender	Terga
D0 (100% de farine de pois chiche).	7,96 ± 0,19	7,96 ± 0,19	7,96 ± 0,19	7,96 ± 0,19	7,96 ± 0,19
D1 = 10 %	4,20 ± 0,08	5,24 ± 0,13	6,16 ± 0,08	6,64 ± 0,17	7,20 ± 0,04
D2 = 20 %	3,92 ± 0,19	4,88 ± 0,12	4,96 ± 0,14	5,64 ± 0,16	6,56 ± 0,17
D3 = 40 %	3,76 ± 0,08	4,16 ± 0,12	4,16 ± 0,07	5,24 ± 0,05	6,04 ± 0,09
D4 = 80 %	3,00 ± 0,07	2,88 ± 0,10	3,48 ± 0,24	4,60 ± 0,16	5,48 ± 0,16
D5 = 100 %	2,92 ± 0,12	3,20 ± 0,14	3,40 ± 0,21	4,00 ± 0,13	5,16 ± 0,17

Concernant la longévité moyenne des femelles de *Callosobruchus maculatus*, nous constatons qu'elle diffère sensiblement de la longévité moyenne des mâles.

En effet, cette longévité varie de 4 à 7 jours pour la D1, de 4 à 6 jours pour la D2 et la D3, de 3 à 5 jours pour D4 et D5, par rapport au témoin qui affiche une longévité moyenne approximative de 8 jours. La longévité enregistrée chez les mâles et les femelles reste inférieure par rapport à celle des adultes non traités.

1.2.4. Effet des cinq variétés de haricot sur la mortalité des adultes

Les résultats mentionnés dans le tableau 16 montrent que la toxicité des cinq variétés de haricot présentés sous forme de graines reconstituées de pois chiche varie d'une variété à une autre pour l'ensemble des doses testées.

Ainsi, l'étude des mortalités cumulées au troisième jour justifie cette différence (Fig. 46, 47 et 48).

La variété sauvage de haricot *Phaseolus caracalla* s'avère la plus toxique à la dose D2 affichant une mortalité corrigée de 54 %, elle est suivie par la S102 et Pinto qui présentent des pourcentages de mortalité corrigée respectifs de 26 % et 17 %. La variété Cotender

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

affiche un faible pourcentage de mortalité corrigé de 2 %. Ce pourcentage est nul chez la variété Terga.

A la dose D3, les mortalités sont importantes au troisième jour sur *Phaseolus caracalla* (60 %). Pour les autres variétés, le pourcentage de mortalité corrigée augmente et on enregistre respectivement 33 %, 22 %, 8 % et 2 % respectivement sur les variétés S102, Pinto, Cotender et Terga.

Tableau 16 : Toxicité de la farine des cinq variétés de haricot vis-à-vis des adultes de *Callosobruchus maculatus* après trois jours d'exposition

Doses (%)	Log Dose	<i>Phaseolus caracalla</i>		S102		Pinto		Cotender		Terga		% Mortalité
		M.M	% M.C.	M.M	% M.C.	M.M	% M.C.	M.M	% M.C.	M.M	% M.C.	
D1= 10	2,30	0,38	32	0,14	6	0,18	10	0,08	0	0,08	0	8
D2= 20	2,99	0,58	54	0,32	26	0,24	17	0,10	2	0,08	0	
D3= 40	3,68	0,64	60	0,4	33	0,30	22	0,18	8	0,12	2	
D4= 80	4,38	0,76	75	0,64	62	0,52	50	0,26	22	0,22	18	
D5= 100	4,60	0,82	78	0,74	69	0,6	52	0,22	18	0,18	10	

Concernant la D4, les mortalités sont pour *Phaseolus caracalla*, S102 et Pinto respectivement de 75 %, 62 % et 50 % ; alors que pour la D1, ce taux ne dépassait pas les 32 % pour *Phaseolus caracalla*, 6 % pour la S102 et 10 % pour Pinto.

En ce qui concerne les variétés Cotender et Terga, le pourcentage de mortalité corrigée est nettement supérieur à celui enregistré à la dose D1 et est respectivement de 22 et 18 %. Seulement, il est à noter que ce taux est supérieur ou égale à 50 % de mortalités en le comparant avec les autres variétés à la même dose D4.

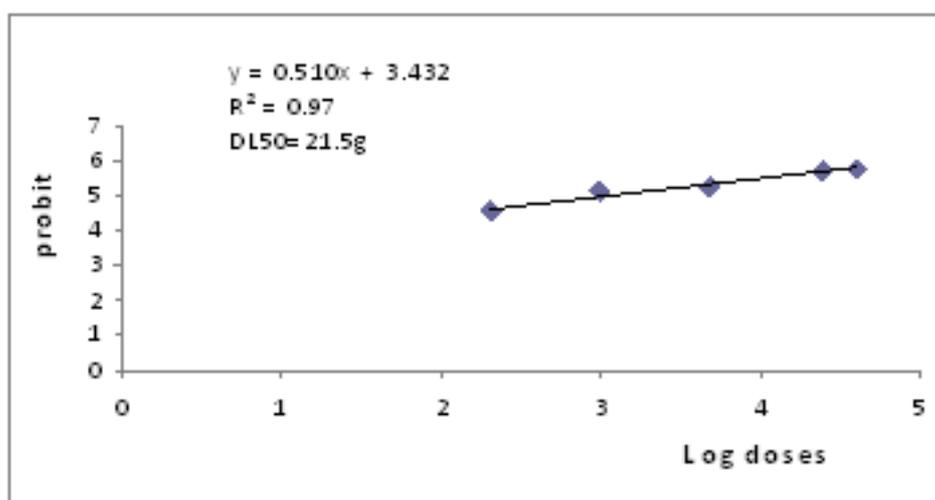


Figure 46 : Activité entomotoxique de *Phaseolus caracalla* sur les adultes de *C. maculatus*

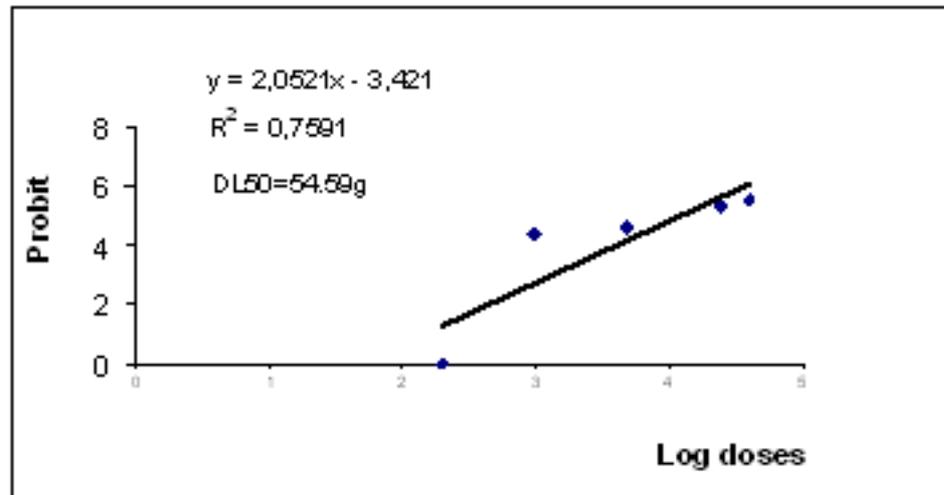


Figure 47 : Activité entomotoxique de S102 sur les adultes de *C. maculatus*.

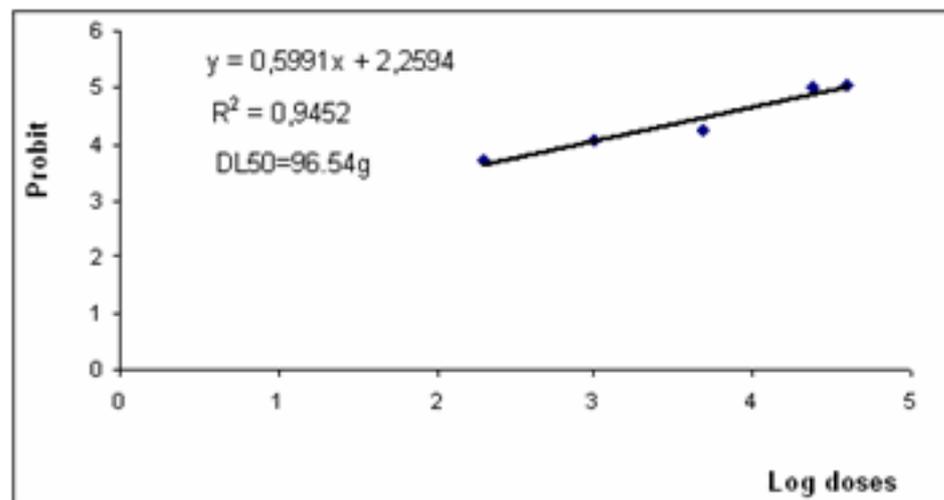


Figure 48 : Activité entomotoxique de Pinto sur les adultes de *C. maculatus* F.

A la dose D5, le pourcentage de mortalité corrigée sur les variétés *Phaseolus caracalla*, S102 et Pinto diffère légèrement à celui obtenu avec la dose D4. Sur Terga, ce pourcentage ne dépasse pas les 10 %. Pour la variété Cotender, le pourcentage de mortalité corrigée est de 18% à la dose D5.

De ces résultats, nous constatons que quelle que soit la variété testée, le haricot paraît toxique à partir de la dose D3 (40 %). La variété *Phaseolus caracalla* apparaît alors la plus toxique suivie de la S102 et de Pinto. Les variétés Cotender et Terga sont les moins toxiques à l'égard de *Callosobruchus maculatus*.

Si on se réfère aux DL50 calculées à partir des équations des différentes droites de régressions établies, les variétés *Phaseolus caracalla*, S102 et Pinto se classent respectivement en 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} position. En effet la DL50 calculée pour *Phaseolus caracalla* est estimée à 21.5 g de farine et est comprise entre la D2 et D3 (Fig. 46). Celle de la variété S102 est de 54.59 g de farine et se situe entre la D3 et la D4 (Fig. 47). La DL50 calculée pour la variété Pinto est de 96.54 g, elle est proche de la D5 (Fig. 48).

1.2.5. Durée de développement

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

Les données sur la durée totale de développement de *Callosobruchus maculatus*, allant de l'œuf à l'imago affichent une différence entre les cinq variétés de haricot et ce aux différentes doses testées (10, 20, 40, 80 et 100 %).

Ainsi à une température de $30\text{ C}^{\circ} \pm 1^{\circ}$ et une hygrométrie de $70\% \pm 5\%$, cette durée est de 29 jours chez le témoin. Cependant, sur le haricot, le cycle de développement de *Callosobruchus maculatus* paraît plus long.

Pour la variété *Phaseolus caracalla*, la durée de développement est au multiple de trois, à la dose D1 et au multiple de cinq à la dose D2. A la dose D3, aucun développement n'a été observé. La variété S102, affiche une durée moyenne de développement de 60.93 j soit deux fois plus importante que le témoin à la dose D1 et de 86.80 j à la dose D2 soit trois fois plus longue que celle enregistrée chez le témoin.

Concernant la variété Pinto, un allongement de 10 jours et de 18 jours de la durée moyenne de développement a été observé aux doses respectives D1 et D2. A la dose D3, cette durée est au multiple de trois par rapport au témoin. Parallèlement, aucun développement n'a été observé à la dose D4.

A la dose D5, aucun développement n'a été enregistré sur l'ensemble des variétés testées (Fig. 49).

Tableau 17 : Effet des doses des cinq variétés de haricot sur la durée moyenne de développement en jours de *Callosobruchus maculatus* étudiée sur graines reconstituées de pois chiche.

Doses	Durée de développement en jours sur cinq variétés de haricot.				
	P. caraccala	S102	Pinto	Cotender	Terga
D0 (pois chiche)	29,00	29,00	29,00	29,00	29,00
D1 = 10 %	80,40	60,93	39,03	38,59	33,25
D2 = 20 %	145,80	86,80	47,23	41,98	38,10
D3 = 40 %	0,00	88,80	53,93	48,10	42,84
D4 = 80 %	0,00	0,00	0,00	45,00	47,96
D5 = 100 %	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

De ce fait, pour *Phaseolus caracalla*, cette durée moyenne de développement est de 80,40 jours et de 145,80 jours aux doses respectives D1 (10 %) et D2 (20 %).

En ce qui concerne la S102, la durée moyenne de développement est de 60,93 jours et 86,80 jours aux mêmes doses citées ci-dessus. A la D3, la S102 affiche une durée moyenne de développement assez proche de celle obtenue avec la D2 et est de 88,80 jours.

Les durées moyennes de développement de *Callosobruchus maculatus* sur les variétés Pinto, Cotender et Terga à la D1 (10 %) restent inférieurs à 40 jours et sont respectivement de 39,03 jours, 38,59 jours et 33,25 jours. A la D2 (20 %), cette durée se prolonge légèrement chez ces mêmes variétés pour atteindre 47,23 jours chez Pinto et 41.98 chez Cotender.

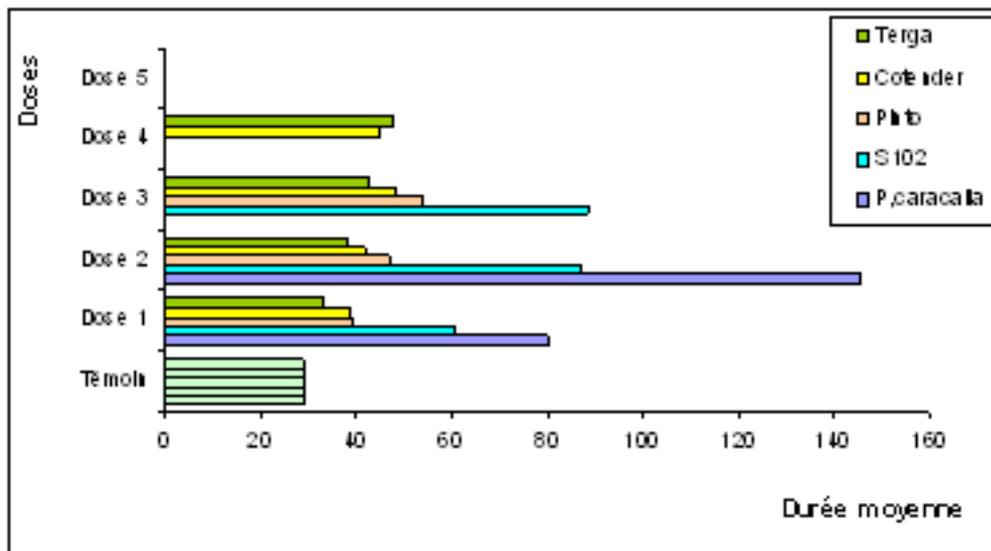


Figure 49 : Effet doses des cinq variétés de haricot sur la durée moyenne de développement de *Callosobruchus maculatus* étudiée sur graines reconstituées de pois chiche.

Les résultats de l'analyse de variance à une probabilité égale à 0,0001 affichent une différence significative pour les facteurs variété et dose.

Ainsi, nous pouvons dire que l'effet variété et dose influencent la durée de développement de *Callosobruchus maculatus*.

De ce fait, le test de NEWMAN et KEULS attribue l'ensemble des variétés testées de haricot à un seul groupe homogène.

Pour le facteur dose, le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5 % fait apparaître quatre groupes homogènes disjoints.

Le groupe A renferme la D5 (100 %) avec un résultat égale à 0,00. La D4 et D0 appartiennent au groupe homogène B avec des moyennes respectives de 18,60 et 26,62.

Le groupe C comprend la D3 et la D1 avec des moyennes respectives de 40,60 et 50,44. La D1 appartient au groupe intermédiaire CD car on la retrouve aussi bien dans le groupe C que dans le groupe D.

Enfin, le groupe D représenté par la D2 qui affiche une moyenne de 61,40.

La durée de développement est un paramètre important dans la détermination de la sensibilité d'une denrée vis-à-vis des attaques des insectes et le développement de ces derniers (Bekon & Fleurat lessard, 1988).

De ces résultats, les doses D1, D2 et D3 paraissent les plus importantes car elles prolongent significativement la durée de développement de *Callosobruchus maculatus*.

Ce prolongement est dû à la présence des lectines dans les farines de haricot qui une fois ingérées par *Callosobruchus maculatus*, ralentissent son cycle de développement.

1.2.6. Calcul de l'indice de sensibilité variétal 'IS'

L'indice de sensibilité variétal de Dobie, est considéré comme un critère de mesure de la variété la plus résistante face aux attaques de l'espèce *Callosobruchus maculatus* F.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

Ce facteur est égal au rapport entre le nombre total des adultes émergés et la durée moyenne de développement. A l'indice le plus bas correspond la variété la plus résistante.

Ce rapport a été calculé pour chaque variété testée aux différentes doses.

Comme le montre le tableau 18, les variétés *Phaseolus caracalla* et S102 manifestent une résistance accrue face aux attaques de *Callosobruchus maculatus* car elles présentent des indices de sensibilité très bas soit des valeurs respectives de 0.86 et 1.61 à la dose D3. Cet indice est de 3.93, 4.59 et 5.16 aux variétés respectives Pinto, Cotender et Terga à la même dose. Sur la base de cet indice, les variétés testées sont classées comme suit :

1. Variété *P. caracalla*.
2. Variété S102.
3. Variété Cotender.
4. Variété Pinto.
5. Variété Terga.

Tableau 18: Les indices de sensibilité des cinq variétés de haricot étudiées à différentes doses sur graines reconstituées de pois chiche.

Doses	<i>P. caracalla</i>	S102	Pinto	Cotender	Terga
D1 = 10 %	2.01	3.00	5.00	5.19	6.26
D2 = 20 %	0.86	1.61	3.93	4.59	5.16
D3 = 40 %	/	1.12	3.04	3.51	4.15
D4 = 80 %	/	/	/	2.67	3.16
D5 = 100 %	/	/	/	/	/

Le calcul de l'indice de sensibilité a permis de classer les variétés de haricot en fonction de leur sensibilité aux attaques de *Callosobruchus maculatus* aux différentes doses testées et par conséquent d'opter pour la variété S102 afin de tester son extrait toxique sur les différents paramètres biologiques de *C. maculatus*.

Il est à noter que *Phaseolus caracalla* présente le plus faible indice de sensibilité soit 0.86 à la dose de 20 %, mais pour des raisons de disponibilité de cette variété ; nous avons opté pour la variété S102 classée en deuxième position.

Nos résultats s'alignent sur ceux obtenus par d'autres auteurs. En effet, Hamelryck et al. (1996), Louis (2004), Brinda (2004) et Zambre (2006), ont déjà signalé la résistance des graines de haricot du genre *Phaseolus* vis à vis de *Callosobruchus maculatus*. Parmi ces variétés, nous citons la G02771, *Phaseolus calcaratus* et *Phaseolus lathyroides*.

2. Effet de l'extrait de lectines tronquées de variété S102 sur les paramètres biologiques

Les résultats obtenus suite aux essais de l'étude de la sensibilité variétale des cinq variétés de haricot et des tests de toxicité vis à vis de *Callosobruchus maculatus* F. aux différentes doses testées ; classent la variété S102 en deuxième position après la variété sauvage *Phaseolus caracalla* qui s'est manifestée comme la plus résistante. Ces deux variétés ont affecté le développement de *C. maculatus* au fur et à mesure que nous augmentons la dose. Par manque de disponibilité de la variété sauvage *P. caracalla*, la S102 a été retenue pour l'extraction de ces lectines selon la méthode décrite par De Azevedo Moreira & Consani Perrone (1976).

L'extraction de la farine de haricot aboutit à l'obtention de 420 ml d'extrait à partir d'un mélange de 80g de farine de haricot de la variété S102 dans 800ml d'eau distillée. Cet extrait contient les lectines tronquées constituant la fraction toxique. Nous allons vérifier l'effet entomotoxique de cet extrait sur *C. maculatus*.

2.1. Effet de l'extrait de lectines tronquées sur la fécondité

Les résultats consignés dans le tableau 19 montrent que la fécondité varie avec les doses d'extrait de lectines testées de la variété S102. En effet, elle diminue au fur et à mesure que la dose augmente. Ainsi, une fécondité moyenne de 6,2 œufs / femelle est enregistrée à la dose 1 soit 50 ml d'extrait. Celle-ci est de 2,6 œufs / femelle à la dose 2 soit 100 ml d'extrait et enfin la dose 3 soit 200 ml d'extrait, qui affiche une fécondité moyenne de 1,12 œufs / femelle. Ces résultats sont comparés avec ceux obtenus sur graines entières et sur graines enrichies en farine de haricot de la même variété seulement à une concentration de 10 % qui représente la dose 1.

Tableau 19: Effet dose de l'extrait de lectines tronquées issu de la variété S102 sur la fécondité moyenne par femelle de *Callosobruchus maculatus* F.

Doses Jours	Dose 1 50ml	Dose 2 100ml	Dose 3 200ml	Témoin
2 ème jour	4,08	1,64	1,04	16,80
4 ème jour	2,12	0,96	0,08	14,60
6 ème jour	0,00	0,00	0,00	9,60
8 ème jour	0,00	0,00	0,00	6,56
10 ème jour	0,00	0,00	0,00	2,88
12 ème jour	0,00	0,00	0,00	1,04
14 ème jour	0,00	0,00	0,00	0,20
16 ème jour	0,00	0,00	0,00	0,00
Fécondité moyenne par femelle	6,20 ± 1,52	2,60 ± 0,62	1,12 ± 0,36	51,68 ± 6,61

Selon la figure 50, le maximum de ponte est observé au deuxième jour. Par ailleurs, nous constatons que la fécondité de *Callosobruchus maculatus* s'échelonne jusqu'au quatrième jour pour l'ensemble des variétés testées aux différentes doses et s'annule au 6 ème jour.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

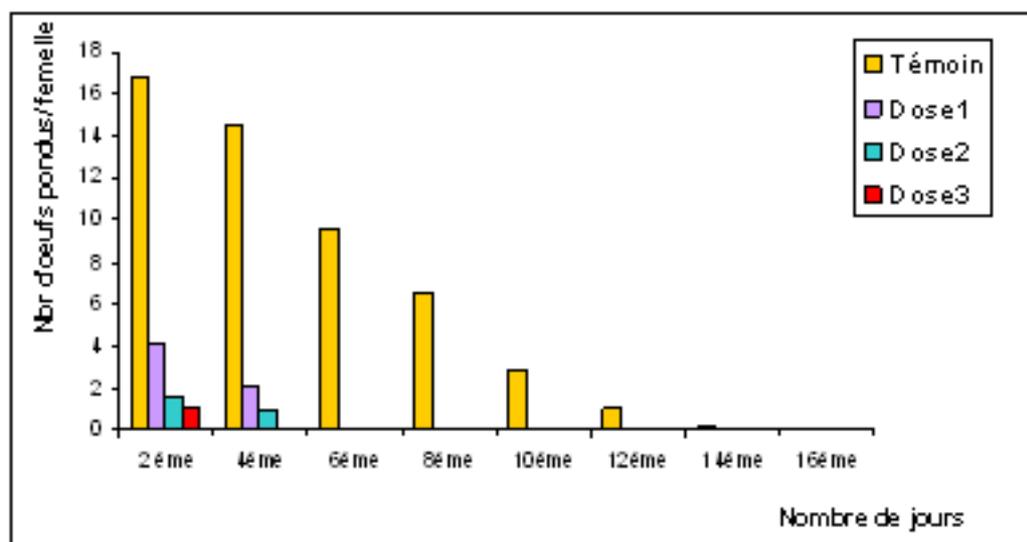


Figure 50 : Effet de l'extrait de lectines de la variété S102 sur l'évolution temporelle de la fécondité de *Callosobruchus maculatus*.

Par rapport au témoin, une diminution est enregistré soit 45.48 % à la plus faible dose D1 (50 ml), 49.08 % à la dose D2 (100ml) et enfin un écart de 50.56 % à la D3 (200 ml).

L'analyse de la variance des résultats montrent qu'à une probabilité de 0,0001 nettement inférieur au seuil de 5 %, la différence est hautement significative, ce qui implique que l'effet dose influence beaucoup la fécondité.

Le test de NEWMAN & KEULS met en évidence l'apparition de trois groupes homogènes bien distincts pour la fécondité des femelles de *Callosobruchus maculatus*.

Le groupe A représenté par les deux doses D3 et D2 où la fécondité est la plus faible avec des moyennes respectives de 5,60 et 13,00. La D2 est une dose rencontrée aussi bien dans le groupe A que dans le groupe B (Groupe intermédiaire AB).

Le groupe B représenté par D1 avec une moyenne de 31,00. Enfin le groupe C comprenant le témoin avec une moyenne de 258,40.

De ce fait, nous pouvons dire que la variété S102 parait la plus résistante à l'égard de *C. maculatus* car elle possède un milieu défavorable à la ponte des œufs de cette espèce aux trois doses testées. L'extrait de lectines issu de la variété S102 affecte la fécondité de *C. maculatus*.

Source	ddl	S.C.M	C.M	F de Fischer	Pr > F	Modalités	Moyenne	G.H
Modèle	3	221079,60	73693,20	398,55	< 0,0001	Dose 3	5,60	A
Résidus	16	2958,40	184,90			Dose 2	13,00	A
Total	19	224038,00				Dose 1	31,00	B
						Dose 0	258,40	C

Tableau 20 : Analyse de variance des résultats de l'évolution de la fécondité de *Callosobruchus maculatus* sur graines remaniées à base d'extrait de lectines issu de la S102.

Cet extrait brut de lectines tronquées est formé de la fraction protéique des graines de la S102, nous pouvons déduire que la toxicité est probablement due à la présence d'une glycoprotéine de réserve (Hamelryck et al., 1996) dont le rôle est d'assurer la protection des graines face aux attaques de *C. maculatus*.

2.2. Effet de l'extrait de lectines tronquées sur la longévité

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous. Ces derniers montrent une légère différence entre la longévité des mâles et des femelles. En effet, cette dernière varie de 2 à 3 jours pour les mâles et de 1 à 3 jours pour les femelles. Ainsi la durée de vie des mâles et des femelles est presque identique et ce de la plus faible dose à la plus forte dose.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus sur graines entières et sur graines enrichies en farine de la variété S102, nous constatons que cet extrait de lectines tronquées a agit sur la longévité des mâles et des femelles de *C. maculatus*. En effet, par rapport au témoin qui affiche une longévité moyenne de 7.04 jours pour les mâles et de 7.96 jours pour les femelles ; sur graines entières, cette dernière est respectivement de 3.48 jours et de 3.36 jours pour les mâles et les femelles à la dose 80%. A la même dose on enregistre sur graines reconstituées une longévité moyenne de 3.36 jours pour les mâles et de 2.88 jours pour les femelles. Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus sur adultes traités avec 50ml (d1) d'extrait de lectines issus de la variété S102 ; cette dose affiche une longévité de 3.04 jours pour les mâles et de 2.72 jours pour les femelles. Par contre, avec la dose de 200ml d'extrait (d3), cette longévité diminue considérablement et est de 05 jours. Elle est respectivement de 2.12 jours et de 1.60 jours pour les mâles et les femelles de *C. maculatus*.

Tableau 21: Longévité moyenne des mâles et des femelles de *Callosobruchus maculatus* sur les graines reconstituées de pois chiche contenant l'extrait de lectines de la variété S102 à différentes doses.

Doses	Longévité moyenne en jour des mâles.	Longévité moyenne en jour des femelles.
Dose 0	7,04 ± 0,12	7,96 ± 0,19
Dose 1	3.04 ± 0,05	2.72 ± 0.11
Dose 2	2,36 ± 0,03	2,76 ± 0,07
Dose 3	2,12 ± 0,07	1,60 ± 0,06

2.3. Effet de l'extrait de lectines tronquées sur la mortalité

Les résultats des essais d'efficacité de l'extrait toxique de la variété S102 vis-à-vis des individus de *C. maculatus* montrent que cet extrait a provoqué des pourcentages de mortalité corrigée supérieurs à 50 % au troisième jour d'exposition et ce de la plus faible dose à la plus forte dose.

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

DOSES	Log dose	Nombre de morts					Total	Mortalité moyenne	% de mortalité moyenne (M.M.)	% Mortalité Corrigée (M.C.)	Probit
		R1	R2	R3	R4	R5					
D1=50 ml	3,91	2	4	2	2	3	13	2,6	68	66,66	5,44
D2=100ml	4,60	2	1	4	2	4	13	2,6	76	75	5,67
D3=200ml	5,29	2	0	3	1	3	9	1,8	98	97	6,68
D0= Témoin		1	1	0	0	0	2	0,4	4		

Tableau 22 : Efficacité de l'extrait de lectines de la S102 sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus* F.

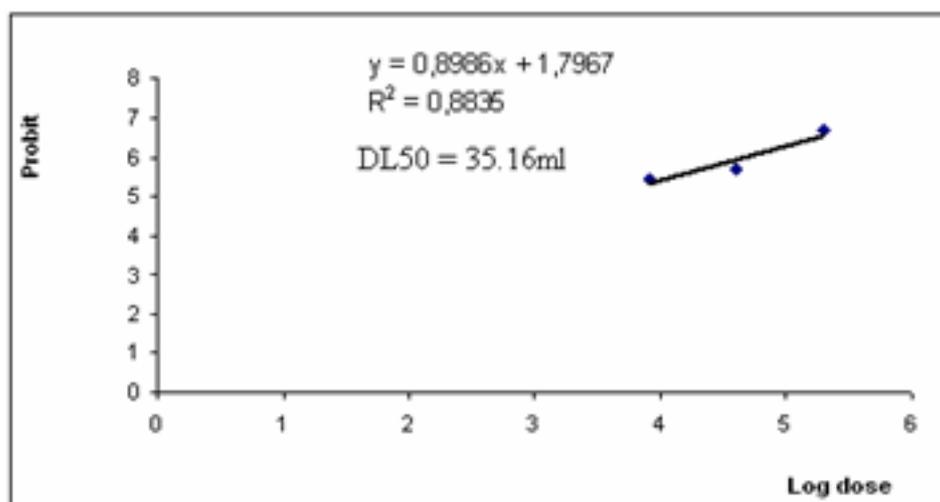


Figure 51 : Efficacité de l'extrait de lectines issu de la variété S102 sur *Callosobruchus maculatus*.

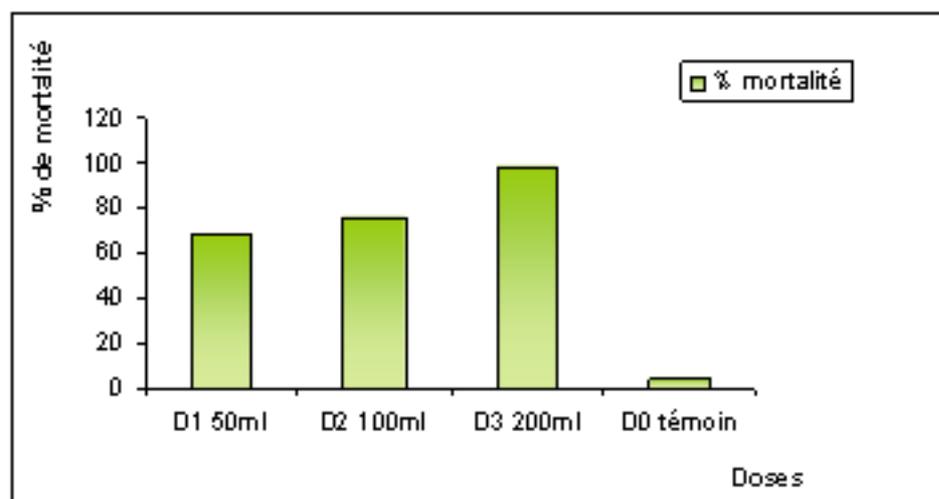


Figure 52: Effet des différentes doses de l'extrait de lectines issu de la S102 Sur la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus*.

Ainsi, à la dose D1 « 50 ml », le pourcentage de mortalité corrigée est de 66,66 %. A la dose D2 « 100 ml », ce pourcentage est presque identique à celui obtenu avec la dose 1 ; il est de 75%. Pour la dose D3 « 200 ml », le pourcentage de mortalité corrigée atteint est de 97 %.

Ce dernier est assez proche de 100 % pour la même durée d'exposition « 3 jours ». Ces résultats sont confirmés par la DL50 calculée à partir de la droite de régression. Cette dernière est proche de la D1 et égale à 35,16 ml d'extrait.

La comparaison des DL50 ainsi que les droites de régressions obtenues sur graines reconstituée de la variété S102 et sur l'extrait issu de cette même variété confirme que l'extrait de la S102 est plus efficace que les graines reconstituée de pois chiche de cette même variété sur *Callosobruchus maculatus*.

L'analyse statistique montre que la mortalité de *C. maculatus* est influencée par l'effet dose au seuil de probabilité égale à 0,016. De ce fait, le test de NEWMAN et KEULS au seuil de 5 % fait apparaître deux groupes homogènes à savoir :

Le groupe A formé des deux doses D0 et D3 avec des moyennes respectives de 0,40 et 1,80.

Le groupe B représente les doses D2 et D1 avec des moyennes identiques et sont de 2,60. La dose D3 appartient à un groupe intermédiaire AB.

Source	ddl	S.C.M	C.M	F de Fischer	Pr > F	Modalités	Moyenne	G.H
Modèle	3	16,15	5,38	4,68	< 0,016	Dose 0	0,40	A
Résidus	16	18,40	1,15			Dose 3	1,80	A B
Total	19	34,55				Dose 2	2,60	B
						Dose 1	2,60	B

Tableau 23 : Analyse de la variance des résultats de l'efficacité de l'extrait de lectines de la variété S102 sur la mortalité des individus de *Callosobruchus maculatus* F.

La mortalité est un paramètre important dans la détermination de la sensibilité de la variété S102 vis-à-vis des attaques de *C. maculatus*. En effet, les résultats obtenus suite aux essais de toxicité réalisés le montre bien.

3. Effet des lectines tronquées sur le tube digestif de *Callosobruchus maculatus* F.

Les dissections sont pratiquées sur des adultes élevés sur pois chiche pour le témoin, sur graines reconstituées de pois chiche de la variété de haricot S102 à la dose 40 % et sur graines reconstituées à base d'extrait de lectines tronquées à la dose 50 ml. Dans tous les cas de la dissection, l'insecte est préalablement maintenue par des épingles sur de la paraffine refroidie coulée sur le fond d'une boîte de pétrie contenant du Bouin aqueux.

Les manipulations sont effectuées sous loupe binoculaire à l'aide de pinces fines. Dès qu'il est complètement dégagé de ses attaches et du corps gras, le tube digestif est déposé dans une solution de Bouin aqueux.

3.1. Description anatomique et histologique du tube digestif des adultes témoins

3.1.1. Description anatomique

L'observation sous loupe binoculaire montre que le tube digestif de *Callosobruchus maculatus* F. est curviligne et s'étend du fond de la cavité orale, bien en arrière des mandibules jusqu'à l'anus. Sa longueur et son diamètre varient respectivement de 7 à 10 mm et de 2 à 3 mm. Il occupe une position centrale dans le plan de symétrie de l'animale, au dessus de la chaîne nerveuse et est recouvert d'une fine pellicule de graisse. Comme chez tous les arthropodes, en l'occurrence les coléoptères, le tube digestif est constitué de trois parties d'origine embryologiques différentes :

- Stomodeum et Proctodeum sont d'origine ectodermique.
- Intestin moyen ou mésentéron d'origine endodermique.

a. Stomodeum (Intestin antérieur)

Le Stomodeum mesure 3mm de long. Il parcourt la région du cou et le prothorax. D'aspect lisse, il comporte un pharynx, un œsophage et un jabot.

- Le pharynx court, prend naissance au plus profond de la cavité buccale. Initialement large dans sa partie proximale, il tend à se rétrécir, tel un entonnoir dans sa partie distale.
- L'œsophage fait suite directement au pharynx. il est étroit d'abord tubulaire, puis dilaté postérieurement en un jabot qui constitue la partie la plus volumineuse du stomodeum.
- Le jabot aboutit à la partie dilatée du mésentéron par l'intermédiaire d'une portion étranglée, le sphincter cardiaque.

b. Mésentéron (Intestin moyen)

Au cours de notre expérimentation, nous avons constaté que l'intestin moyen ou ventricule chylifique représente la majeure partie du tube digestif et mesure 5.4 mm de long. Il a

une pigmentation marron clair, est plus volumineux, sa partie antérieure est pourvue de six caecums gastriques de couleur jaunâtre allongés parallèlement du tube digestif.

Chaque caecum comprend un tube antérieur allongé qui se dirige vers le jabot et un tube postérieur court dirigé vers l'intestin moyen.

La lumière postérieure du mésentéron est marquée par une constriction très évidente, le sphincter pylorique. C'est à ce niveau que viennent s'insérer, comme chez la majorité des coléoptères six tubes de Malpighi.

c. Le proctodeum ou Intestin postérieur

Le proctodeum mesure 3 mm de long. Nous pouvons y distinguer trois segments tous lisses mais différenciés par leur aspect. Le segment proximal est le lieu de débouchement des extrémités distales des tubes de Malpighi. Le segment intermédiaire correspond à un rectum et il existe une ampoule rectale.

3.1.2. Description histologique

a. Histologie du Stomodeum

La subdivision de l'intestin antérieur en pharynx, œsophage et jabot, établie sous loupe binoculaire, se trouve confirmée par l'analyse des coupes histologiques de cette partie du tube digestif. Un fait majeur est à souligner : il s'agit de l'existence d'une cuticule, revêtement chitineux et sclérotinisé, qui limite la face apicale de l'hypoderme de l'intestin antérieur. La présence d'une telle cuticule est une conséquence de l'origine ectodermique du stomodeum.

b. Histologie du mésentéron

Les coupes du mésentéron des insectes se reconnaissent aisément car on n'y découvre jamais la cuticule des autres régions du tractus digestif. Le mésentéron est un organe typiquement endodermique.

La comparaison des coupes sériées du mésentéron, même au faible grossissement du microscope, permet de dire que l'intestin moyen se subdivise en trois régions distinctes. Nous qualifierons de segment proximal la partie qui fait suite au stomodeum, juste après la vulve cardiaque ; de segment intermédiaire celui qui vient ensuite et de segment distal la partie qui s'abouche au proctodeum au niveau de la vulve pylorique.

les coupes du mésentéron sont circulaires et mesurent 8.75mm de diamètre. On y découvre :

- La lumière mésentérale :

L'espace luminal renferme des débris alimentaires en cours de digestion chimique, en particulier des grains de haricot qui ont subi une dénaturation sous l'effet de la chaleur.

- La muqueuse intestinale :

La muqueuse intestinale qui circonscrit cette lumière est constituée d'un épithélium assez complexe puisqu'on y découvre quatre catégories cellulaires différentes :

- Des cellules prismatiques ciliées.
- Des cellules en raquette.
- Des cellules claires glandulaires probablement mucipares.

- Des cellules indifférenciées de petite taille, classiquement nommées cellules de régénération.

- Les cellules prismatiques :

Les cellules prismatiques prédominent dans la région proximale du mésentéron. Elles ont 46,6 μm de hauteur sur 17,4 μm de largeur. Elles présentent à leur pôle apical un plateau strié bien révélé par la coloration de Mallory. Leur noyau, volumineux, ovoïde, de 10 μm de hauteur, disposé en position centrale, renferme un à deux gros nucléoles distincts et une chromatine granuleuse éparse.

Les cellules prismatiques sont disposées sur un même niveau, cote à cote de façon continue.

- Les cellules en raquette :

En certains endroits de la muqueuse intestinale, il apparaît des lots de 6- 8 cellules en forme de raquettes, pouvant atteindre 60, 4 μm de hauteur. Ces cellules qui dépassent nettement les cellules prismatiques par leur taille, ont une base étroite et pédonculée avec une partie supérieure renflée. Leur noyau, de 9 μm de diamètre, se trouve du côté basal. Le cytoplasme des cellules en raquette, apparaît très médiocrement par le Mallory. Cependant, il nous a été difficile de cerner ces cellules au cours de notre expérimentation.

- Les cellules indifférenciées :

Dans la région basale de l'épithélium intestinal, sous un amas de cellules en raquette, on observe un ensemble compact de petites cellules dont le nombre varie entre 10 et 14 par amas.

Histologiquement sectionné, ces cellules sont difficiles à discerner car elles sont disposées irrégulièrement. Leur noyau est très volumineux et n'est entouré que par une faible couche de cytoplasme. Ces cellules sont responsables de la régénération de l'épithélium intestinal.

- La tunique musculaire :

La muqueuse du mésentéron est un épithélium pseudostratifié, prismatique et cilié. Elle repose sur une lame basale de 3,5 μm d'épaisseur légèrement ondulée. Extérieurement, elle est bordée par une tunique musculaire qui comprend :

- Une couche profonde de fibres musculaires circulaires.
- Des faisceaux périphériques de fibres musculaires longitudinales disposés en plages qui sont régulièrement réparties autour de la couronne constituant le mésentéron vu en coupe.

C. Histologie du proctodeum

- Le segment antérieur du proctodeum :

Le segment antérieur du proctodeum « intestin postérieur » est un conduit de section circulaire de 4,4 mm de diamètre. Sa lumière est dépourvue de villosités, vaste et limitée de manière régulière. Son histologie diffère singulièrement de celle du mésentéron ou du stomodeum.

Les cellules sont recouvertes d'une cuticule épaisse de 17,4 μm ce qui est la propriété de toute cellule d'origine ectodermique. La cuticule comprend trois couches intimement

superposées : une épicuticule dense et bien colorable, une exocuticule à structure microscopique granuleuse.

- Le rectum :

Le rectum fait directement suite à l'intestin postérieur proprement dit. Son diamètre est relativement petit par rapport aux autres portions du tube digestif (2,75 mm). De section circulaire, il contient de grandes villosités.

- L'ampoule rectale :

L'ampoule rectale ne présente pas de véritables villosités mais il existe un certain nombre de dépressions délimitant une lumière. Ces dépressions séparent l'épithélium en six secteurs épaissis, ce détail est en conformité avec ce que l'on connaît de l'ampoule rectale des Coléoptères. Celle-ci, extérieurement et par transparence, montre toujours six bandes longitudinales distinctes. Ce sont ces ensembles longitudinaux de cellules que les entomologistes nomment glandes anales.

L'épithélium de l'ampoule rectale est constitué de deux catégories cellulaires :

- Les cellules des glandes anales de type prismatique.
- Les cellules basales : très petites qui seraient probablement des cellules de régénération.

3.2. Effets des lectines tronquées sur le tube digestif de *Callosobruchus maculatus* F.

3.2.1. Modifications anatomiques

L'observation du tractus digestif des adultes ne permet pas de mettre en évidence des lésions microscopiques. De ce fait l'effet destructif est peu évident après une observation à l'œil nu. Toutefois, nous avons été amené à constater les modifications suivantes par comparaison au témoin(Fig.53).

- Les adultes issus d'un développement sur graines reconstituées de pois chiche enrichi à 40% de farine de la variété S102 la plus résistante, montrent des modifications au niveau du tractus digestif. En effet, par rapport au témoin, nous avons enregistré une diminution de la fécondité et un important pourcentage de mortalité.
- Les graines reconstituées de pois chiche contenant 50 ml d'extrait de lectines tronquées de la variété S102 relatif à la dose1, ont donné des individus atrophiés et un taux de mortalité inférieur à 50% au deuxième jour

3.2.2. Modifications histologiques

a. Effet sur le stomodeum

Aucune altération n'est observée au niveau du pharynx, de l'œsophage et du jabot des tubes digestif des adultes élevés sur graines reconstituées de pois chiche enrichi à 40 % de farine de la variété S102 ou contenant 50 ml d'extrait de lectines tronquées issu de cette même variété.

b. Effet sur le mésentéron

Effet entomotoxique de quelques variétés de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Bruchidae).

On observe une réaction de l'épithélium mésentéral suite à la présence de la fraction protéique qui envahie la lumière intestinale. On note ainsi la détérioration d'un grand nombre de cellules prismatiques. Ainsi, on distingue :

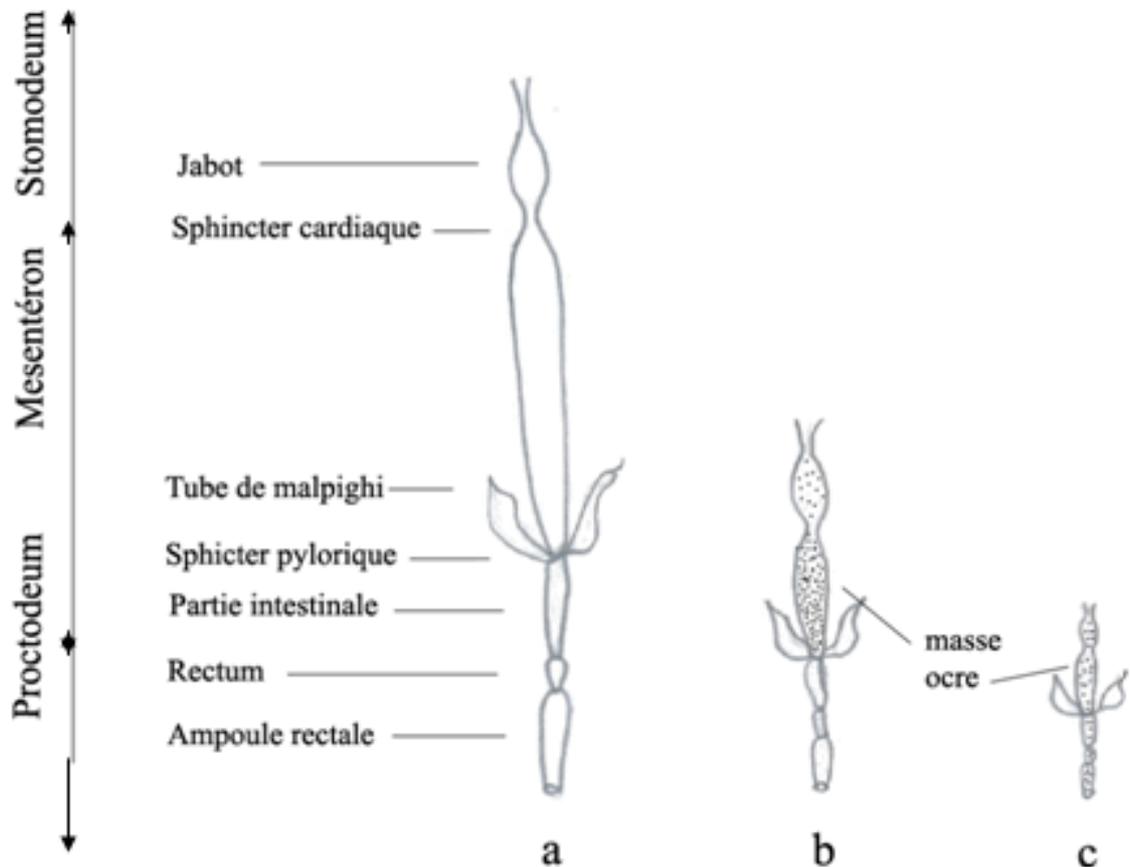


Figure 53 : *a/ Anatomie du tube digestif de l'adulte témoin de Callosobruchus maculatus F. Taille réelle 7 mm. b/ Anatomie du tube digestif de l'adulte de C. maculatus élevé sur graines reconstituées de pois chiche dosées à 40% de S102. Taille réelle 3.5 mm. c/ Anatomie du tube digestif de l'adulte de C. maculatus élevé sur graines reconstituées d'extrait de lectines de S102 dosé à 50ml. Taille réelle 0.1 mm*

- Absence l'aptitude à sécréter le matériel translucide qui apparaît plus ou moins lié aux plateaux striés des mésentéron.
- Formation de vésicules bien délimitées par une membrane et à contenu clair dans la région apicale des cellules.
- Eclatement de ces vésicules, avec pour conséquence la destruction de la partie distale des cellules et la libération des contenus cytoplasmiques dans la lumière mésentérale.

Parallèlement, on observe une réaction de la membrane péritrophique dont le rôle est d'assurer la protection de l'épithélium. L'impact de la stagnation de la fraction protéique à ce niveau s'exprime par les faits suivants :

- Une forte altération de l'épithélium intestinal dont une disparition complète des cellules en raquette de leur emplacement.

- Une destruction de nombreuses cellules prismatiques suite à l'éclatement des régions apicales entraînant la perte des contenus cellulaires en l'occurrence la libération des glycanes localisés au niveau de la membrane péritrophique qui interfèrent négativement avec les glycoprotéines libérés par les graines de haricot. Ceci est élucidé par la présence d'une masse qui bloque la digestion du bol alimentaire.
- Une lyse totale des cellules constituant les nids de régénération et de la lame basale.

Les cas de destruction les plus importants sont obtenus avec les graines reconstituées à partir d'extrait de lectines issu de la variété S102 aux différentes doses testées. En effet, des signes réels de disparition de matériel intercellulaire sont alors observés au niveau de l'ensemble des cellules.

L'impact de la présence de la fraction protéique au niveau du mésenteron se traduit, d'après nos observations par la détérioration totale de l'épithélium intestinal. Ainsi, les adultes exposés aux graines reconstituées de pois chiche ou d'extrait de lectines tronquées présentent des lésions évidentes.

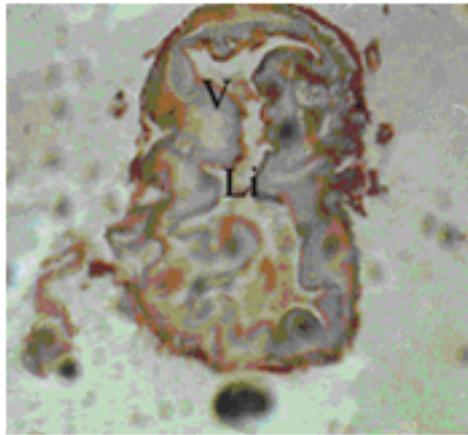


Figure 54a : Vue d'ensemble du caecum gastrique du témoin (Original). Grossissement : G X 160

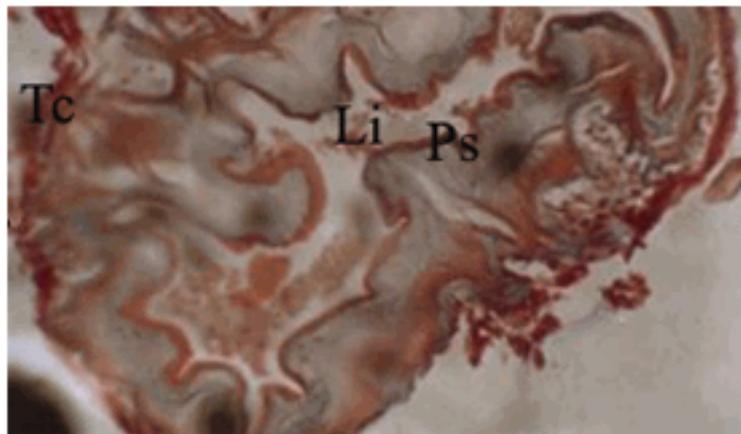


Figure 54b : Coupe histologique d'une portion du caecum gastrique de *Callosobruchus maculatus* (Témoin) (Original). Grossissement : G X 400

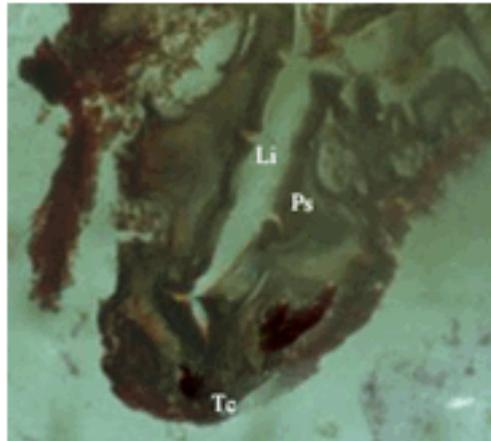


Figure 54c : Coupe histologique transversale au niveau d'une portion du caecum gastrique de *Callosobruchus maculatus*(Traité) (Original).

On observe :

- La lumière (Li) large et vide.
- Epithelium (Ep) unistratifié.
- Absence de cuticule (Cu).
- Présence de plateau strié (Ps).
- Présence d'une membrane péritrophique (Mp).
- Présence de vésicules de sécrétion (V).
- Tissu conjonctif (Tc) occupant l'axe des villosités.

Résultat : Aucun changement n'a été observé

- Fixateur : Bouin aqueux.
- Coloration : Mallory
- Grossissement : G x 400.

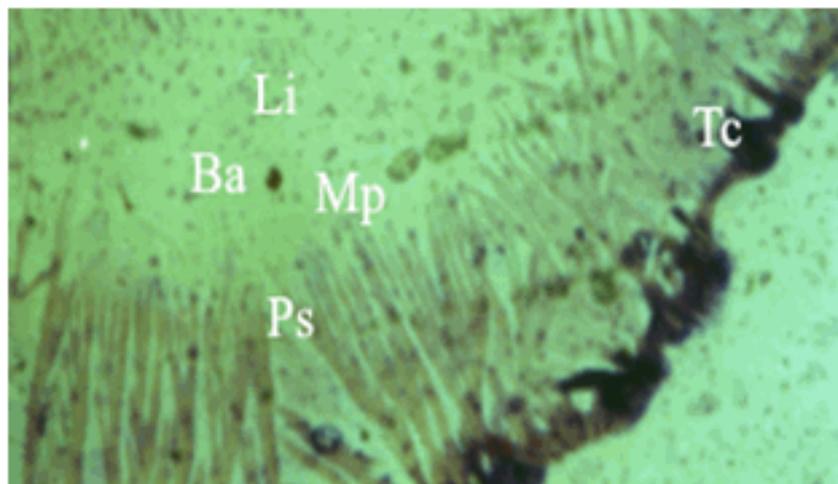


Figure 55a : Coupe histologique transversale au niveau du mésentéron de *Callosobruchus maculatus* (Témoin) (Original).

On observe :

- La lumière (Li) moyennement large, contenant des débris alimentaires (Da).

- Epithélium (Ep) unistratifié, avec des cryptes de régénérations.
- Présence de plateau strié (Ps).
- Absence de cuticule (Cu).
- Présence d'une membrane péritrophique (Mp).
- Présence de vésicules de sécrétions (V).
- Présence du tissu conjonctif (Tc).
- Musculature développée constituée de trois types : muscles longitudinaux internes (Mli) muscles circulaires moyens (Mcm), muscles longitudinaux externes (Mle).
 - Fixateur : Bouin aqueux.
 - Coloration : Mallory.
 - Grossissement : G x 400.

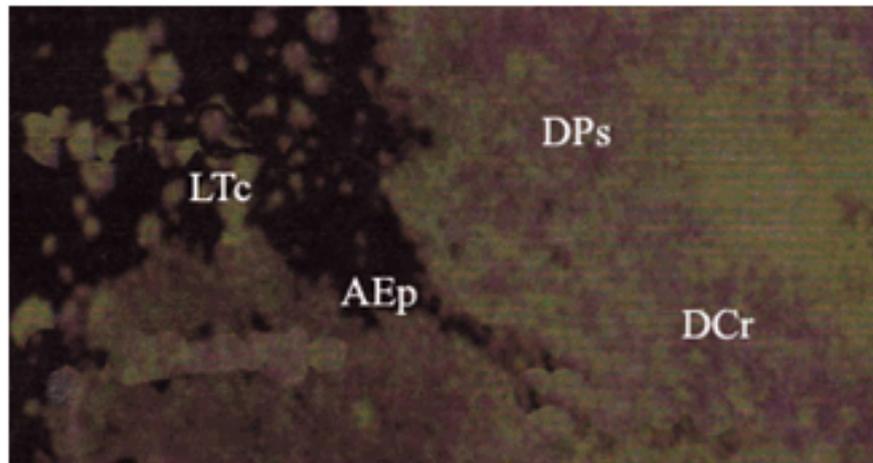


Figure 55b : Coupe histologique transversale au niveau du mésentéron de *Callosobruchus maculatus* (Traité) (Original).

- Ba : Bol alimentaire
- Ce : Cellules épithéliales
- E : Epithélium.
- Lb : Lamelle basale
- Li : lumière.
- Mle : couche externe de fibres musculaires longitudinales.
- Mci : couche interne de fibres musculaires circulaires.

On observe :

- Disparition de l'épithélium et les cryptes de régénération
- Disparition de la membrane péritrophique
- Disparition du plateau strié et des vésicules de sécrétion
- Réduction de la musculature
- Disjonction épithélio-conjonctif
- Rétraction et lyse du tissu conjonctif
- Une lyse apicale est observée par endroit avec rejet du matériel cytoplasmique dans la lumière intestinale entre la membrane péritrophique et l'épithélium intestinal.
- Les cellules présentent de nombreuses plages de lyse intracellulaires.

Fixateur : Bouin aqueux. /Coloration : Mallory. /Grossissement : G x 400.

C. Modification au niveau du proctodeum

A la suite des épreuves d'ingestion du contenu protéique des graines formées à partir de farine de haricot de la variété S102 ou d'extrait de lectines issu de cette même variété par les adultes de *Callosobruchus maculatus*, aucune modification n'a été observée. (Planche4, Fig.56a, 56b).

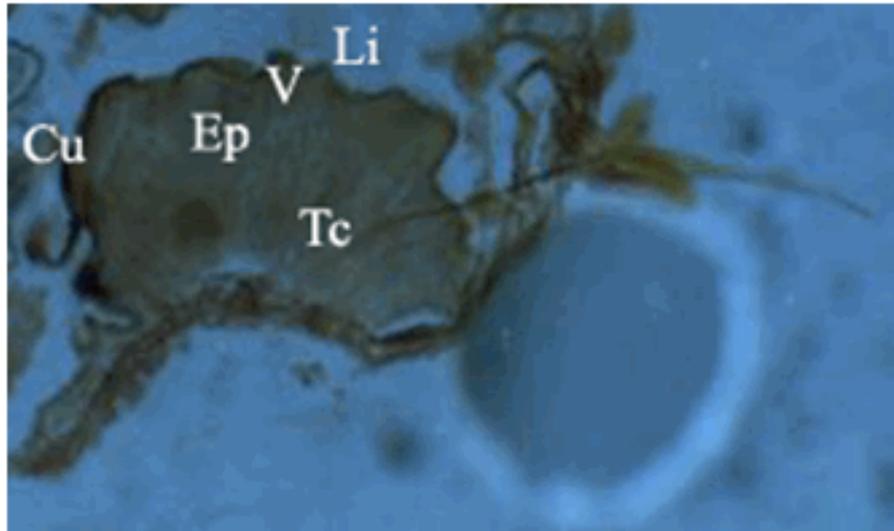


Figure 56a : Coupe histologique transversale au niveau d'une portion de l'intestin postérieur de *Callosobruchus maculatus* (Témoin) (Original).

On observe :

- Lumière (Li) large partiellement remplie d'aliments.
- Nombreuses villosités (V) aplaties.
- Epithélium unistratifié, recouvert par une cuticule.
- Tissu conjonctif (Tc) occupant l'axe des villosités.
 - Fixateur : Bouin aqueux.
 - Coloration : Mallory
 - Grossissement : G x 400

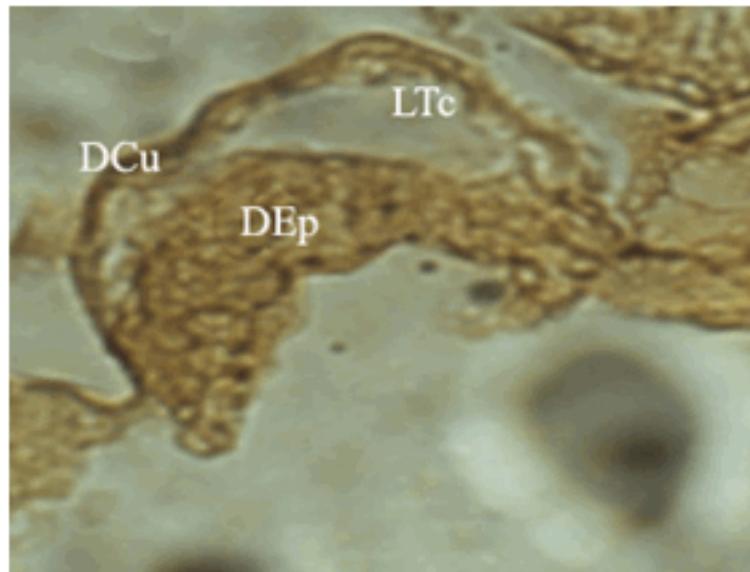


Figure 56b : Coupe histologique transversale au niveau d'une portion de l'intestin postérieur de *Callosobruchus maculatus* (Traité) (Original).

On observe :

- Dégradation partielle de la cuticule (DCu).
- Lyse du tissu conjonctif (LTc).
- Dégradation de l'épithélium (DEp).
 - Fixateur : Bouin aqueux.
 - Coloration : Mallory
 - Grossissement : G x 400

3.3. Interprétations des observations anatomiques et histologiques relatives au tube digestif

3.3.1. Observations des adultes témoins

Nos observations, après dissection des individus, sont conformes à celles effectuées pour beaucoup d'insectes de coléoptères et dont on peut trouver les détails dans les ouvrages de base concernant l'anatomie et la physiologie des Insectes (Chapmann, 1975 ; Grasse, 1949 ; Crowson, 1981). Le fait qu'on ait affaire à des adultes d'un coléoptère ayant une préférence pour les graines à réserves protéiques, ceci se traduit par les traits anatomiques suivants du tube digestif :

- Un stomodeum simple, dépourvu de proventricule, son pharynx est fortement musclé car il n'y a pas lieu de prélever de la nourriture liquide.
- Un mésentéron pourvu de cæcums gastriques, des glandes unicellulaires ou en petits amas suffisant à produire les enzymes de la digestion.
- Un proctodeum peu spécialisé, notamment sans annexes rectales développées.

3.3.2. Observations des adultes traités

L'anatomie est, évidemment, la même que chez les adultes témoins ; exception faite pour les adultes ayant été en contact avec les graines reconstituées de pois chiche à partir d'extrait

de lectines issu de la variété S102 testées aux doses D2 « 100ml » et D3 « 200ml », où nous avons observé un rétrécissement du tube digestif difficilement visible à l'œil nu et par conséquent nous ne pouvons pas délimiter les trois parties constitutives de l'intestin à savoir : le stomodeum, le mésentéron et le proctodeum. En effet, au cours de notre expérimentation la dissection a été réussie mais les organes ayant subi les différentes étapes histologiques; leur volume diminue considérablement. En effet, la taille moyenne des adultes témoins est de 7.73 ± 2.35 et celle des adultes traités est de 1.2 ± 0.72 mm. Par conséquent, il nous est impossible de réaliser l'inclusion des organes dans la paraffine. Ceci est certainement dû à l'effet toxique qu'à engendrer ces graines artificielles aux doses étudiées.

En ce qui concerne les tubes digestifs isolés à partir des adultes émergents à partir de graines reconstituées de pois chiche enrichi en farine issu de la variété S102 ou de 50 ml d'extrait de lectines tronquées de cette même variété, on observe un défaut général dans la fonctionnalité structurale du tube digestif. En effet, nous avons constaté la présence d'une lyse des cellules au niveau du mésentéron et une dilatation anormale du jabot due à une accumulation du bol alimentaire (Fig.53c).

Dans ce contexte, Bell (1972) estime qu'il existe des systèmes de protection développés par les graines au cours de leur maturation contre les attaques des insectes. La famille des légumineuses semble avoir évolué vers l'élaboration des substances chimiques protectrices des graines qui forment une source remarquable d'acides aminés exceptionnels.

Cependant, si la longueur de la période de conservation des graines de légumineuses est avantageuse pour la consommation humaine, elle favorise aussi la contamination par les insectes susceptibles de surmonter les barrières tégumentaires et allélochimiques des graines

(Sharon & Lis, 1990). Il y a ainsi la spécificité des défenses puisque ces barrières sont différentes suivant les espèces de légumineuses qui présentent des spectres différents de substances allélochimiques (Labeyrie, 2005).

Les composés chimiques produits par les plantes sont probablement le facteur le plus important contrôlant le comportement des insectes dans la nature (Schiltz, 1997) et l'intérêt porté aux défenses chimiques des plantes n'a cessé de croître. Ces composés de structure et de nature variées peuvent avoir des effets répulsifs, antiappétants ou toxiques pour les insectes. En effet, la meilleure connaissance des fractions intervenant dans la défense contre le ravageur considéré permet d'orienter les sélections de variétés résistantes destinées à l'alimentation.

Pour accroître la résistance aux attaques des insectes ravageurs, il est intéressant d'étudier les mécanismes de résistance fonctionnant dans les variétés sauvages (Sales & al., 2000). En effet, des niveaux élevés de résistance contre *Callosobruchus maculatus* ont été trouvés dans un certain nombre de variétés sauvages de *Phaseolus vulgaris* (Goossens & al., 2000). Par contre, les géotypes du haricot cultivé montrent des niveaux très bas de résistance (Schoonhoven & al., 1983). Cette haute résistance est conférée par la présence des lectines.

Parallèlement, les larves d'*Acanthocephalus obtectus* en contact avec le broyat de graines de *Phaseolus vulgaris*, meurent si la teneur en tégument est artificiellement augmentée (Stamopoulos & Huignard, 1980). Ainsi, à une concentration de 5% on obtient un taux de mortalité de 100%.

Selon Yunes & al. (1998), les vicilines isolées à partir des graines du dolique de Chine, ralentissent le développement de cette espèce.

Par ailleurs, des résultats ont suggéré, que des niveaux plus élevés de résistances pourraient être obtenus en augmentant la concentration d'une substance entomotoxique l'arcéline. Cette protéine antimétabolique (Malaikozhundan & al., 2003) se lie à la périphérie de la matrice de l'intestin des insectes pour interférer avec l'absorption nutritive (Higgins & al., 1998) et provoque par conséquent un retard des émergences des adultes de

C. maculatus (Sales & al., 2000).

Selon Goossens & al. (2000), il existe une différence entre les diverses variétés de haricot en leur :

- Teneur globale en protéine.
- Pourcentage que représente l'arcéline par rapport à la teneur globale des protéines.

Le rapport Arcéline / Phaséoline.

Dans ce cadre, plusieurs protéines de haute valeur nutritionnelle ont été produites dans différents tissus végétaux transgéniques en l'occurrence les graines de haricot (De jaeger & al., 2002).

Selon Muzquiz & al.(1999), les teneurs en oligosaccharides de la famille des raffinoses, des phytates, des saponines et des lectines de *P. vulgaris* sont clairement influencés par des facteurs environnementaux et génétiques.

Aussi, des études mettent en évidence que les lectines jouent un rôle de défense contre certains insectes (Huesing & al., 1991, Yamamoto, 1994 ; Peumans & Van Damme, 1995 ; Gatehouse et Gatehouse, 1998; Foissac et al., 2000 ; Moura et al., 2007). Ainsi, en se fixant sur la muqueuse intestinale, les lectines pourraient avoir différents effets entomotoxique (Pusztai & al., 1993) de nature et d'intensité variables selon leur origine botanique (Crevieu, 1999).

3.3.3. Interprétation des observations histologiques effectuées sur le tractus digestif

Comme il a été bien précisé, la seule anomalie observée réside au niveau du mésentéron. En effet, chez les insectes, le mésentéron est la partie réellement « digestive » du tube digestif et intervient dans l'absorption. La paroi intestinale comprend un épithélium protégé par une membrane péritrophique mince et transparente. Cette dernière, emballe la nourriture pendant son passage le long du mésentéron. Elle est formée d'un réseau de fines fibrilles et renferme de la chitine et des protéines.

La membrane péritrophique agit comme un filtre dans l'absorption des produits de la digestion. En effet, les cellules épithéliales tapissant le tube digestif des insectes sont en contact avec les protéines du bol alimentaire et sont donc des cibles potentielles des protéines de défense.

De ce fait, en réalisant ces coupes histologiques, nous avons pu localiser et visualiser l'effet des lectines au niveau de cette partie du tube digestif de *Callosobruchus maculatus*.

Ainsi, la lyse des cellules de la membrane péritrophique est certainement due à la présence des protéines de défense au niveau de la fraction protéique des graines du haricot, qui une fois ingérée par *Callosobruchus maculatus*, interfèrent négativement avec les constituants de cette membrane en l'occurrence avec les glycanes.

Plus précisément, lorsque l'on sait que les glycoprotéines sont les constituants majoritaires des membranes de ces cellules, on peut imaginer que la lumière de l'intestin

moyen est littéralement couverte de sites de liaison potentiels pour les lectines contenues dans le bol alimentaire.

De ce fait, à la suite d'une interaction lectines- glycoprotéine, d'importantes lésions locales du mésentéron apparaissent ayant pour conséquences de rendre les graines reconstituées enrichies en farine de haricot ou formée à partir de l'utilisation d'extrait de lectines de la variété S102, toxique pour l'insecte *Callosobruchus maculatus* F.

Les dégâts ont une amplitude plus ou moins grande suivant les concentrations des lectines ingérées, mais se traduisant toujours par une accumulation importante dans la lumière mésentérale de débris membranaires et de matériels cytoplasmiques

L'intoxication cellulaire par les lectines est indiscutable. Nous pouvons nous demander s'il existe une relation entre les fonctions de cellules mésentériques et leur sensibilité aux lectines. Ces cellules à la fois sécrétrices et absorbantes offrent des différences d'une région à l'autre qui reflètent des rôles physiologiques diversifiés : sécrétion (Enzymes digestives, substances diverses), absorption, excrétion et régulation osmotique.

Raccaud-schoeller (1980), considère que le mésentéron est le siège de nombreuses sécrétions. Nos observations sur *Callosobruchus maculatus* appuient ces faits. En effet, dans la région de l'intestin, les cellules de sécrétion sont absentes. La fonction essentielle des cellules de cette région serait l'absorption. Ainsi, les cellules intestinales offrent une grande surface luminale et une bordure striée bien développée. Par dissection, les éléments de l'intestin moyen sont floculants, alors que dans le stomodeum et le proctodeum, on ne retrouve qu'un liquide clair et fluide.

Les dommages pourraient aussi ne pas se limiter au mésentéron, notamment aux fortes concentrations en lectines, mais si nous savons que les lectines sont capable de s'accumuler et de se fixer dans le proctodeum et le stomodeum, notre travail ne nous permet pas d'affirmer que l'ensemble de l'intestin est atteint.

Parralèlement, d'autres travaux suggèrent que les lectines agiraient sur la perméabilité membranaire des cellules épithéliales (Gatehouse et Gatehouse, 1984). Ce même auteur a étudié la toxicité des lectines vis-à-vis de la bruche *Callosobruchus maculatus*.

L'hypothèse d'une interaction des lectines avec les groupements glycosylés de la paroi intestinale est aujourd'hui bien admise. Fontes et al. (1997), utilisent classiquement des lectines pour identifier par immunohistochimie la nature des sucres à la surface de l'intestin moyen.

Enfin, il est important de montrer que les lectines sont très résistantes à la protéolyse intestinale. La multiplicité de ces observations démontre que le mode d'action des lectines au niveau cellulaire est encore imparfaitement compris.

Depuis toujours, des produits naturels à effet entomotoxique sont utilisés pour lutter contre les insectes ravageurs des denrées entreposées.

L'étude sur la sensibilité variétale du haricot face aux attaques de *Callosobruchus maculatus* nous a permis de déterminer par le biais des paramètres biologiques de calculer l'indice de sensibilité des variétés testées afin d'établir un classement des variétés du haricot vis-à-vis des attaques de la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus*, espèce fréquemment rencontrée dans nos stocks de légumineuses.

Pour cela, nous avons procédé à l'étude de la sensibilité variétale de cinq variétés de Haricot basée sur les paramètres biologiques de cette espèce de bruche.

En deuxième lieu, nous avons réalisé des tests biologiques concernant l'efficacité pour déterminer la toxicité de ces variétés de haricot testées. Des résultats hautement significatifs sont obtenus car ces variétés ont eu un effet toxique.

Conclusion générale

A la lumière des résultats obtenus, nous remarquons que toutes les variétés testées quelles soient présentées sous forme de graines entières ou reconstituées de pois chiche sont exposées aux attaques de *Callosobruchus maculatus* mais à des différents degrés.

Les résultats relatifs aux tests entomotoxiques sur graines entières de cinq variétés de haricot sur *Callosobruchus maculatus* montrent une variabilité de la fécondité moyenne par femelle de cette espèce par rapport au pois chiche « variétés témoin ».

Cette fécondité est plus élevée sur Pinto avec 8.2 œuf par femelle, suivie des deux variétés Terga et Cotender avec des valeurs respectives de 7.8 œuf par femelle et 7 œuf par femelle. La variété S 102 affiche une fécondité moyenne de 5.04 œuf par femelle et enfin, *Phaseolus caracalla* où l'on enregistre une faible moyenne de 2.92 œuf par femelle.

Cependant, sur l'ensemble des variétés de haricot étudiées sous forme de graines entières, nous avons constaté que ces dernières empêchent les œufs de *Callosobruchus maculatus* d'éclore malgré la présence de pontes sur la surface de ces graines.

Pour *Callosobruchus maculatus*, la longévité moyenne des mâles est légèrement plus longue que celle des femelles. Cette dernière est de 2.6 jours, 3.48 jours, 3.88 jours, 4.44 jours et 5.52 jours chez les mâles respectivement sur les variétés *Phaseolus caracalla*, S102, Pinto, Cotender et Terga. Chez les femelles la longévité moyenne varie entre 2.28 jours et 4.6 jours.

Concernant le pourcentage de mortalité enregistré, les cinq variétés de haricot testé ont un effet entomotoxique par rapport au témoin engendrant des mortalités supérieures à 50 % au bout de trois jours d'exposition pour la S102 (55.10 %) et *Phaseolus caracalla* (75.51 %).

Les graines de pois chiche reconstituées enrichi isolément en farine des cinq variétés de haricot révèlent une variabilité entomotoxique des paramètres biologiques de l'espèce *Callosobruchus maculatus*. En effet, la fécondité de cette espèce sur les cinq variétés de haricot est nettement inférieure à celle réalisée sur témoin, ainsi les doses D3, D4 et D5 ont manifesté un effet entomotoxique contre *Callosobruchus maculatus*.

Pour l'étude de la fertilité sur graines reconstituées de pois chiche enrichi en farine de haricot, nous constatons que ce dernier n'offre pas des conditions favorables au bon développement de *Callosobruchus maculatus*, ainsi les doses les plus efficaces sont la D3 et D4 où nous avons enregistré un très faible pourcentage d'émergence.

Il ressort des résultats, que les variétés les plus résistantes suite à l'étude de l'indice de sensibilité sont *Phaseolus caracalla* et la S102. En effet, ces dernières sont dotées de composés défensifs généraux qui leur permettent de développer une certaine résistance face aux attaques de *Callosobruchus maculatus*. Ceci implique que la composition chimique du haricot est un facteur majeur déterminant le choix de la plante par l'insecte ravageur.

Concernant la durée moyenne de développement de *C. maculatus*, les doses D1, D2 et D3 paraissent les plus importantes du fait qu'elles la prolongent significativement.

Sur graines reconstituées à base d'extrait de lectines, la fécondité moyenne par femelle de *Callosobruchus maculatus* obtenue aux trois doses testées à savoir D1 = 50 ml, D2 = 100 ml et D3 = 200 ml diminue au fur et à mesure que la dose augmente.

Parallèlement, l'extrait de lectines tronquées a agit sur la longévité des mâles et des femelles de *C. maculatus* car l'ensemble des doses s'avère toxiques sur cette espèce où nous avons enregistré un pourcentage de mortalité supérieur à 50 % pour les trois doses testées après trois jours d'exposition des adultes. En effet, par rapport au témoin qui affiche une longévité moyenne de 7.04 jours pour les mâles et de 7.96 jours pour les femelles ; sur graines entières, cette dernière est respectivement de 3.48 jours et de 3.36 jours pour les mâles et les femelles à la dose 80%. A la même dose on enregistre sur graines reconstituées une longévité moyenne de 3.36 jours pour les mâles et de 2.88 jours pour les femelles. Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus sur adultes traités avec 50ml (D1) d'extrait de lectines issus de la variété S102 ; cette dose affiche une longévité de 3.04 jours pour les mâles et de 2.72 jours pour les femelles. Par contre, avec la dose de 200ml d'extrait (D3), cette longévité diminue considérablement. Elle est respectivement de 2.12 jours et de 1.60 jours pour les mâles et les femelles de *C. maculatus*.

Si la présence de toxicité différentielle dans l'extrait des graines de la variété S 102 est une indication de la possibilité de présence d'une glycoprotéine, elle n'en n'est pas une démonstration absolue. Ainsi, afin de poursuivre et compléter cette étude sur les glycoprotéines de réserves présentes au niveau de la variété de haricot S 102, une purification et isolation de la protéine en question à partir d'extraits de graines est indispensable.

En effet, ces dernières agissent en quelques jours aux doses moyennes en inhibant l'ingestion. Ainsi des techniques de l'histologie révèlent que la cible physiologique primaire de la fraction toxique des protéines est le mésentéron. Des modifications histologiques sont observées au niveau de ce dernier:

- Altération et fragmentation de l'épithélium, après liaison des lectines aux cellules.
- Induction d'une hypertrophie des cellules et un détachement de leur membrane apicale.
- Disparition des vésicules de sécrétions et de la membrane péritrophique.

Tous ces résultats, montrent que la fraction protéique en l'occurrence les lectines tronquées des graines de haricot quelles soit entières ou reconstituées de pois chiche sont efficaces sur le coléoptère *Callosobruchus maculatus*. Leur mode d'action réside au niveau du mésentéron.

A la lumière de tous les résultats obtenus, il ressort que cette glycoprotéine de défense des graines de haricot est dotée de propriétés insecticides certains, permettant de réduire les populations de *Callosobruchus maculatus*. Cette étude pourrait être élargie aux autres insectes de post récolte pour l'essentiel *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*. Il serait aussi important d'isoler, de purifier ce facteur entomotoxique présent chez le haricot responsable de la mortalité de *Callosobruchus maculatus*, d'étudier la génétique de la résistance par le biais de la biologie moléculaire et d'élucider le mécanisme d'action de ces lectines extraites de graine de haricot, légumineuse largement consommée par l'homme. Cela contribuera à la mise au point d'une lutte non polluante contre les insectes des denrées stockées et à une meilleure connaissance de la phylogénie des légumineuses.

References bibliographiques

- Abe J. L., Sidenius U. et Svensson B., 1993. Arginine is essential for the alpha amylase inhibitory activity of the alpha amylase / subtilisin inhibitor (BASI) from barley seeds. *Biochem. J.* Vol. 293, pp. 151-155.
- Acostagallegos J.A., Quintero C., Vargas J., Taro O., Tohme J. et Cardona C.; 1998. A new variant of arcelin in wild common bean, *Phaseolus vulgaris* L., from Southern Mexico. *Genetic Resources and crop evolution.* Vol. 45, pp. 235-242.
- Ali R. et Muzquiz M., 1998. ANFs in tropical legume seeds for human nutrition. In Jansman AJM, Hill GD, Huisman J. Vander poell AFB. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and reseed, pp.207-213.
- Anonyme, 2007 a. Le monde des légumes secs. Ed. FNLS. Fédération Nationale du légume sec. 1p.
- Anonyme, 2007 b. Haricot commun. In Wikipédia, l'encyclopédie libre. 5p.
- Anonyme, 2007 c. Haricots secs: situation Actuelle et perspectives. N°16, Vol. 13, 6p.
- Anonyme, 2007 d. L'alliance santé par les haricots. In *Northarvest Bean Growers*. 13p. <http://www.northarvestbean.org/>
- Anonyme, 2005. L'alliance santé par les haricots. [http : //www.northarvest bean.org/](http://www.northarvestbean.org/) <http://www.infovisual.info/01/020-fr.html>
- Anonyme, 2004. Les légumineuses. In ASA- conseils. 1p.
- Appert J. (1992). Le stockage des produits vivriers et semenciers. Ed. Maisonneuve & Larose, Vol. 2 pp.223.
- Arbogost R.T. et Mullen M.A., 1990. Interaction of maize weevil (*Coleoptera: Curculionidae*) and parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (*Hymenoptera: Pteromalidae*) in a Small bulk of stored corn. *J.Econ. Entomol.* (U.S.A.), N°6, Vol.83, pp. 2462-2468.
- Arthur F.H., 1996. Grain protectants: Current status and prospects for the coleop. *J. Stored prod. Res.*, Vol.32, pp.293-302.
- Balachowsky A. S., 1962. Entomologie appliquée à l'agriculture. Les coléoptères. Ed. Masson et Cie, Paris, T1, Vol.1, 564p.
- Balachowsky A. S. Hoffman A. et Labeyrie V., 1962. Traité d'entomologie appliquée à l'agriculture. Vol.1, pp. 434-494.
- Balls A.K., Hale W.S. et Harris T.H., 1942. AcrySTALLINE protein obtained from a lipoprotein of wheat flour. *Cereal Chemistry.* Vol. 19, pp. 279-288.
- Bardocz S. et Pusztai P., 2004. The twentieth international lectin meeting, *INTERLEC 20*. Abstract 1p.
- Bell E.A., 1972. Toxic amino-acid in the leguminosae. *Phytochemical Ecology*, J.B. Ed. Harbone, Acad. Press. pp. 163-177,

- Birk K., 1976. Proteinase inhibitors from plant sources. *Methods Enzymol.* Vol. 45, pp. 695-697.
- Boman H.G., 1995. Peptide antibiotics and their Role in Innate Immunity. *Annu. Rev. Immunol.* Vol.13, pp. 61-92.
- Boucherit K., 1979. Etude des alpha-galactosides du saccharose du Haricot. Mémoire d'Ingénieur INA. El Harrach, Alger.105p.
- Boughdad F., Morales F. et Ramirez H. et Legrand M., 1986. Tannin Chemistry. 39p. *Departement of Chemistry and Biochemistry*
- Boutin J.P., Dronne Y., Ducournau S., Gueguen J., Leguen J., Munier – Jolain N., Seve B., et Tivoli B., 2006. Les protéagineux. Ed. INRA, 102p.
- Brinda K.V., Mitra N., Surolia A. et Vishveshwara S., 2004. Determinants of quaternary association in legume lectins. In *Protein Science*, Vol. 13, pp: 1735-1749.
- Broekaert W.F., Vanparijs J., Leyns F. et Joos H; 1989. A chitin binding lectin from stinging nettle rhizomes with antifungal properties. *Sciences.* Vol. 245. pp. 1100-1102.
- Brunner F., Stintzi A., Fritig B. et Legrand M., 1998. Substrate specificities of tobacco chitinases. *Plant J.* Vol. 14, pp. 225-234.
- Capelle M.J., 2003. Diversité génétique et Dynamique adaptative de *Colletotrichum lindemuthianum* à l'intérieur de populations sauvages de son hôte, le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*). Thèse de Doctorat. Université Paris 6/ Pierre et Marie curie. UFR de biologie. 234p.
- Cardona C., Kornegay J., Posso C.E., Morales F. et Ramirez H., 1990. Comparative value of four arcelin variants in the development of dry bean lines resistant to the Mexican bean weevil. *Entomologia Experimentalis and Applicata.* Vol.56, pp: 197-206.
- Carlini C.R. et Guimaraes J.A., 1981. Isolation and characterization of a toxic protein from *Canavalia ensiformis* (jack bean) seeds, distinct from concalectin A *Toxicon.* Vol.19, pp. 667-75.
- Carlini C.R., Barcellos G.B.S., Baeta Neves A.D.V. and Guimaraes J.A., 1988. Immunoreactivity for canatoxin and concalectin A among proteins of legume seeds. *Phytochemistry.* Vol. 27, pp. 25-30.
- Carlini C.R. et Guimaraes J.A., 1991. Plant and microbial toxic proteins as hemilectins: emphasis on canatoxin *Toxicon.* Vol.29, pp. 791-806.
- Carlini C.R., Oliveira A.E., Azambuja P., Xavier- Filho J. et Wells M.A., 1997. Biological effects of canatoxin in different insect models: evidence for a proteolytic activation of the toxin by insect cathepsinlike enzymes. *J. Econ Entomol.* Vol. 90, pp. 340-8.
- Carlini C.R. et Grossi de Sa F., 2002. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides *Toxicon.* Vol. 40, pp. 1515- 39.
- Caswell G.I.I., 1961. The infestation of cowpeas in the western region of Nigeria. *Trop. Sci.* Vol. 3 pp. 154-158.
- Catala I., 1998. La défense des plantes in document : la main à la pâte 5p.
- Champ R. et Dyte C.E., 1978. Rapport de l'enquête mondiale de la F.A.O. sur les insectes des céréales entreposées et leur sensibilité aux insecticides. Ed. F.A.O., Rome, 374p.

- Chapmann R.F., 1975. The insects structure and function (Chapter III, The alimentary canal). The English university press LTD, Vol.38, pp. 91.
- Chen K., Lin C.Y., Kuan C.C., Sung H.Y. et Chen C.S.A., 2002. A novel defensin encoded by mungbean cDNA exhibits insecticidal activity against bruchid. *J. Agric. Food chem.* Vol.50, pp. 7258-7263.
- Chrispeels M.J. et Raikhel N.V., 1991. Lectins, Lectin Genes and Their Role in Plant Defense. *Plant Cell.* Vol. 3 pp. 1-9.
- Christeller J.T., Farley P.C., Ramsay R.J., Sullivan P.A. et Laing W.A., 1998. Purification, characterization and cloning of an aspartic proteinase inhibitor from squash phloem exudate. *Eur. J.Biochem.* Vol.254, pp. 160-167.
- Clore G.M., Nilges M., Sukumaran D.K., Brunger A.T., Karplus M. et Gronenborn A.M., 1986. The three dimensional structure of alpha-1- purothionin in solution: combined use of nuclear magnetic resonance, distance geometry and restrained molecular dynamics. *EMBO Journal.* Vol. 5, pp. 2729- 2735.
- Cohen E., 1993. Chitin synthesis and degradation as targets for pesticide action. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* Vol. 22 pp. 245-261.
- Colling D., Kragh K., Mikkelsen J., Nielsen K., Rasmussen U. et Vad K., 1993. Plant chitinases. *Plant J.* Vol.3, pp. 31-40.
- Collins P.J., 1990. A new resistance to pyrethroids in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Pestic. Sci. (United- Kingdom)*, N° 1, Vol.28, pp.101-115.
- Cordeiro A.T., Gerhardt I.R., Oliveira – Neto O.B., Bloch C., J. et Grossi de sa M.F.F., 2000. Molecular modeling of arcelin5c from bean seeds and détermination of ist solution state in protein and peptid letters, N°4, Vol.7, pp. 249-256.
- Crevieu G., 1999. Digestion des protéines végétales chez les monogastriques. Exemple des protéines de pois. Ed. INRA, *Production Animal.* Vol.12, pp.147-161.
- Crowson R.A., 1981. The biology of Coleoptera. Academic Press, London, New york Toronto, pp.1-801.
- Debouq D.G., 1988. Early beans (*Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus lunatus* L.) domesticated for their aesthetic value? *Ann. Rep. Bean Improvement Coop.* Vol. 32, pp. 62-63.
- De Jaeger G., Sheffer S., Jacobs A., Zambre M. Zobell O., Goossens A., Depicker A. et Angenon G., 2002. Boosting heterologous protein production in transgenic dicotyledonous seeds using *Phaseolus vulgaris* regulatory sequences. *Nat. Biotechnol.* N°12. Vol.20, pp. 1265-8.
- Delobel B., 1999. Une protéine du petit pois contre les charançons. In *Presse info.* INRA.pp.5-10.
- Delobel A. et Tran M., 1993. Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Orstom Publ., Paris, 424p.
- Delobel B. et Grenier A.M., 1999. Effect of non cereal food on cereal and tamarin pod weevils (*Coleoptera: Curculionidae*) *J. Stored Prod. Res.* Vol.29, pp.7-14.
- Deshpand S.S. et Damodaran S., 1989b. Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin *J. Food Sci.*, Vol. 54, 695-699.

- D'Mello J.P.F., 1991. Toxic amino acids. In *Toxic substances in crop plants*, (Eds.J.P.F; D'Mello C.M. Duffus and J.H. Duffus) Cambridge: *The Royal Society of Chemistry*. pp. 22-48.
- Don Pedro K.N., 1996. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citrus peel oil components. *Pestic. Sci.* Vol.46, pp. 79-84.
- Dongre T.K., Harwalkar M. R., Nene S.P., Padwa L. et Desai S.R., 1997. Radiosensitivity of different developmental stage of pulse beetle (*Callosobruchus maculatus*) In *Food Technol. Div., BHABHA atomic Res. Cent. Trombay, Mumbai-400085, India. Journal of Food Science and Technology (MYSORE)*, N°5. Vol. 34, pp 413-415.
- Doulliez J.P., Michon T., Elmorjani K. and Marion D., 2000. Structure, biological and technological functions of lipid transfer proteins and indolines, the major lipid binding proteins from cereal Kernels. *J. Cereal Sci.* Vol. 30, pp. 1-20.
- Ducom P., 1982. Protection chimique des grains en climat tropical. In Multon J.L., 1982. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés, céréales, oléagineux et protéagineux, aliments pour animaux. Ed. APRIA, Paris, pp.1092-1101.
- Ducom P. et Bourges F., 1987 Dernières tendances dans la protection des grains stockées. *Phytoma. Déf. Des Cultures*, N° 385, pp. 38-39.
- Fouilloux G. et Bannerot H. (1988). Le haricot www.inra.fr www.aprifel.com www.biodiversity.soton.ac.uk
- Etzler M.E., 1986. Distribution and function of plant lectins in the lectins: properties, functions and applications in biology and medicine. Orlando (USA): Liener I.E., Sharon N., Goldstein I.J., *Academic Press, Inc*, pp.371-437.
- Evans S.V., Fellows L.E., Shing T.K.M. et Fleet G.W.J., 1985. Glycosidase inhibition by plant alkaloids which are structural analogues to monoisaccharides. *Phytochemistry*. Vol.24, pp. 1953- 1955.
- F.A.O., 2006. Bulletin trimestriel. F.A.O. de statistique. F.A.O. QBS. Vol.9, N°19. pp78.
- Fellows L., Evans S.V., Nash R.J. et Bell E.A., 1986. Polyhydroxy plant alkaloids as glucosidase inhibitors and their possible ecological role. In *Natural resistance of plants to pests.* , pp 72-78.
- Feng G.H., Richardson M., Chen M.S., Kramer K.J., Morgan T.D. et Reeck G.R., 1996. Alpha-amylase inhibitors from wheat: amino acid sequences and patterns of inhibition of insect and human alpha-amylases *Insect Biochem Mol.* Vol. 26, pp. 419-426.
- Fields P. G., 1992. The control of stored product insects and mites with extremes temperatures. *J. Stored Prod. Res.* Vol. 34, pp 269-277.
- Fields P., 2001. Ravageurs des entrepôts de grains et des produits alimentaires. Ed .*Centre de recherche sur les céréales. Canada.* pp. 698-699.
- Firmino F., Fernandes K.V.S., Sales M.P., Gomes V.M., Miranda M.R.A., Domingues S.J.S. et Xavier-Filho.J., 1996. Cowpea (*Vigna unguiculata*) vicilins associate with putative chitinous structures in midgut and feces of the bruchid beetles *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus*. *Braz J. Med. Biol. Res.* Vol. 29, pp. 749-756.

- Fleurat Lessard F., 1980. Enquête sur l'état sanitaire des stocks de grains en France. Deuxième partie : Les résultats. *Bulletin technique d'information du ministère de l'agriculture*, N° 349, pp. 271-280.
- Fleurat Lessard F., 1989. Autre méthodes de lutte. Ed. AFNOR & ITCF. Paris, pp. 165-168.
- Fleurat Lessard F., 1998. Entomologie des céréales et des dérivés et autres contamination d'origine Animal. In Godon B., Willm C., 1998. Les industries des premières transformations des céréales. Ed. Technique et Documentation Lavoisier, pp. 174-202.
- Foissac X., Loc N.T., Christou P., Gatehouse A.M.R. et Gatehouse J.A., 2003. Resistance to green leafhopper (*Nephotettix virescences*) and brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in transgenic rice expressing snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA). *J. insect physiol.* Vol. 46, pp.573-583.
- Follmer C., Barcellos G.B.S., Zingali R.B., Machado O.L.T., Alves E.W., Barja Fildago C., Guimaraes J.A. et Carlini C.R., 2001. Canatoxin, a toxic protein of jack beans (*Canavalia ensiformis*), is a variant form of urease (EC3.5.1.5.). Biological effects of urease independant of its ureolytic activity. *Biochem. J.* Vol. 360, pp. 217-224.
- Fontes W., Sousa M.V., Aragao J.B. et Morhy L., 1997. Determination of the amino acid sequence of the plant cytolytic enterolobin. *Arch. Biochem. Biophys.* N°347, Vol. 2, pp.201-207.
- Fory L.F., Finardi F., Quintero C.M., Osborn T.C., Cardona C., Chrispeels M.J. et Mayer J.E., 1996. Alpha- amylase inhibitors in resistance of common beans to the mexican bean weevil and the bean weevil (*Coleoptera: Bruchidae*). *J.Econ. Entomol.* Vol.89, pp. 204-210.
- Fossdal C.G., Nagy N.E., Sharma P. et Lonneborg A., 2003. The putative gymnosperm plant defensin polypeptide (SPI1) accumulates after seed germination, is not readily released, and the SPI1 levels are reduced in *Pythium dimorphum*-infected spruce roots. *Plant Mol. Biol.* Vol.52, pp. 291-302.
- Gakuru S. et Foua-Bi k. 1995. Effet comparé des huiles essentielles de quatre espèces végétales contre la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fab.) et le charançon du riz (*Sitophilus oryzae* L.). *Tropicultura* N°4, Vol. 13, pp.143-146.
- Gatehouse A.M.R. et Gatehouse J.A., 1998. Identifying proteins with insecticidal activity: use of encoding genes to produce insect- resistant transgenic crops. *Pestc. Sci.* Vol. 52, pp.156-175.
- Gbolade A.A. et Adebayo T.A., 1993. Fumigant effects of some volatil oils on Fecundity and adult emergence of *Callosobruchus maculatus* F. *Insect. Sci. Applic.* Vol. 14, pp. 631-636.
- Gilbert B.L. et Norris D.M., 1968. A chemical basis for bark beetle (*Scolytus*) distinction between host and non-host trees. *J. Insect Physiol.* Vol.14, pp. 1063-1068.
- Giri A.P. et Kachole M.V., 1998. Amylase inhibitors of pigeon pea (*Cajanus cajan*) seeds. *Phytochemistry.* Vol. 47, pp.197-202.
- Goldstein I.J. et Hayes C.E., 1978. The lectins: Carbohydrate- binding proteins of plants and animals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, Vol. 35, pp.127-334.

- Goldstein I.J. et Portez R.D., 1986. Isolation, physicochemical characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins: properties, functions and applications. In *Biology and Medicine*. Orlando (USA): Liener I.E., Sharon N., Goldstein I.J., Academic Press Inc. pp. 35-249.
- Gomes E., Sagot E., Gaillard C., Laquitaine L., Poinssot B., Sanejouand Y.H., Delrot S. et Coutos-Thevenot P., 2003. Nonspecific lipid-transfer protein genes expression in grape (*Vitis sp.*) cells in response to fungal elicitor treatment. *Mol. Plant Microbe Interac.* Vol.16, pp. 456-464.
- Gomes V.M., Da cunha M., Miguens F.C., Fernandes K.V.S., Rose T.L. et Xavier – filho J., 1998. Ultra structure and immunolabelling of *vigna unguiculata* vicilins (7S storage proteins) associated to fungi cells. *Plant Sci.* Vol. 138, pp. 81-89.
- Goossens A., Dillen W., De clercq J., Van Montagu M., Cardona C. et Angenon G., 2000. Analysis of bruchid resistance in the wild common bean accession G02771: no evidence for insecticidal activity of arcelin5. *Journal of Experimental Botany*, N°348, Vol. 51, pp. 1229-1236. Oxford University Press.
- Goossens A., Geremica R., Bauw G., Van Montagu M. and Angenon G., 1994. Isolation and characterization of arcelin5 proteins and cDNA. Abstract. *Eur. J. Biochem.* N°3, Vol.225, pp. 787-795. *Copyright c by federation of European Biochemical Societies.*
- Grant G., More L.G., Mc Kenzie N.H. and Pusztai A., 1982. The effect of heating on the haemagglutinating activity and nutritional properties of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Journal of Science Food and Agriculture.* Vol. 33, pp. 1324-1326.
- Grant G., 1991. Lectins in toxic substances in crop plants. Ed. J.P.F. D'Mello M.C. Duffus and J.H. Duffus. Cambridge: *Royal Society of Chemistry* pp. 49-67.
- Grasse P., 1949. *Traité de zoologie, anatomie, systématique, biologie.* Ed. Masson & Cie. Paris T. IV, 979p.
- Griffiths D.W., 1982. The phytate content and Iron-binding capacity of various field Bean (*Vicia faba* L.) preparations and extracts. *J. Sci. Food Agri*, Vol.33, pp. 847-851.
- Grossi De Sa M.F., Mirkov T.E., Ishimoto M., Colucci G., Bateman K.S. et Chrispeels M.J., 1997. Molecular characterization of a bean alpha-amylase inhibitor that inhibits the alpha-amylase of the Mexican bean weevil *Zabrotes subfasciatus*. *Planta.* Vol.203, pp. 295-303.
- Gueguen M. et Cerletti S., 1994. Proteins of some legumes seeds: Soy bean, Pea, Faba beans and Lupin. In: B.J.F. Ed. HDSON, *New and developing sources of food Proteins* Chapman and Hall, USA. Pp. 145-193.
- Gwinner J., Harnisch R. et Muck O, 1996. Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte. *Progrès de protection des stocks et des récoltes.* Echborn, R.F.A., 388p.
- Hagstrum D.W., Vick K.W. and Webb J.C., 1990. Acoustical monitoring of *Rhyzoperta dominica* (Coleoptera- Bostrychidae). Population wheat. *J. Environ. Entomol.* Vol. 83, N°2, pp 625-628.
- Hamelryck T.W., Poortmans F., Goossens A., Angenon G., Van Montagu M., Wyns L. et Lois R., 1996. Crystal structure of arcelin5, a lectin-like defense protein from

- Phaseolus vulgaris*. *The American Society for Biochemistry and molecular Biology, INC*, N°51, Vol. 271, pp. 32796-32802.
- Hamraoui A. et Regnault-Roger C., 1997. Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. *Acta bot. Gallica*, N°4, Vol. 144, pp. 401-412.
- Harborne J.B., 1988. Introduction to ecological biochemistry. New York: *Academic press*. Vol. 19, pp.1498-1501.
- Hartweck L.M., Vogelzang R.D. et Osborn T.C., 1991. Characterization and comparison of arcelin seed protein variants from common bean. *Plant Physiol.*Vol. 97, pp. 204-211.
- Haryadi, 1994. Sensibilité variétale du riz aux attaques de *Sitophilus oryzae* L. et *Sitotroga cerealelia* (olivier). Analyse de l'origine d'une résistance potentielle. *Thèse doct. Scien. Agr. Ecol. Nat. sup. Agr. De Montpellier*
- Higgins T.G.V., Grossi de sa M.F. et Chrispeels M.J., 1998. Genetic engineering with amylase inhibitors makes seeds resistant to bruchids. *Seed Sci. Res* Vol. 8, pp.1-8.
- Highland H. A., 1991. Post irradiation protection from infestation by insect resistant packaging in porc of the final. *Res. Coordination meeting, ienna (Austria)*. IAFA, pp.51-57.
- Hirabayashi J., 1997. Introduction to lectin In *Glyco Word Protein*. Teikyo university, *faculty of Pharmaceutical Scienses*. . Pp.1-3.
- Hirashina A., Lieno R. and Eto M., 1992. Effects of various stressors on larval growth and whole body octopamine levels of *Tribolium castaneum* (Herbst) *Pest. Bioch. Physiol. (USA)*, N°3. Vol. 44 pp 217-225.
- Hojjati S.M., 1976. Amino acid patterns of kidney beans grown under different S and K regimes. *Argon J.* Vol. 68, pp.668-671.
- Hoffman A. et labeyrie V., 1962. Entomologie appliquée à l'agriculture. Ed. Masson et Cie., Paris, T.1, 564p.
- Hopquin B., 1994. Lisses, rides, sucres colores tous les pois sont dans la nature, Vol. 86, pp.10-11. Unité informations, In *PELT JM*, 1993, Des légumes, pp.165-170.
- Hopquin B., 1997. Légumes d'industrie : le renouvellement des variétés en 1996. *Unilet- Informations*, Vol. 96, pp. 8-11.
- Hopquin B., 1998. Le haricot vert *Phaseolus vulgaris*. In Description, production et amélioration génétique des légumes. pp.131-141.
- Hruska A.J., 1988. Cyanogenic glucosides as defense compounds: a review of the evidence. *J. Chem. Ecol.* Vol.14, pp. 2213-2217.
- Huesing J.E., Murdock L.L. et Shade R.E., 1991. Rice and Stinging Nettle Lectins. Insecticidal Activity similar to wheat-Germ-Agglutinin. *Phytochemistry*, N°11 Vol.30, pp.3565-3568.
- Iserin, 1997. Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soin. Préface de Paule Iserin. Ed. Lavoisier. 95p.

- Ishaaya I., Birk Y., Bondi A. and Tencer Y., 1969. Soybean saponins. IX. Studies of their effects on birds, mammals and cold-blooded organisms. *J. Sci. Food Agric.* Vol.20, pp. 433-436.
- Iulek J., Franco O.L., Silva M., Slivinski C.T., Bloch C., Rigden D.J. et De Sa M.F.G., 2000. Purification, biochemical characterisation and partial primary structure of a new alpha-amylase inhibitor from *Secale cereale* (rye) *Inter. J. Biochem. Cell Physiol.* Vol. 32, pp. 1195-1204.
- Janzen D.H., 1977. The interaction of seed predators and seed chemistry in comportement des insectes et milieu trophique, Ed.CNRS, 493p pp. 415-428.
- Janzen D.H., 1976. Seed eaters versus seed size, number, toxicity and dispersal-evolution. N°23, Vol. 1, pp.1-27.
- Kader J.C., 1996. Lipid- transfer proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* Vol. 19, pp. 398-402.
- Kaminski P.A., Buffard D. & Strosberg A.D. ; 1987. The pea lectin gene family contains only one functional gene. *Plant Molec. Biol.* N° 5, Vol.9, pp. 497-507.
- Karbache F., 2000. Etude du comportement de quelques variétés de pois chiche vis à vis des attaques de deux insectes de stock *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidé).Thèse Ing. Agron., Inst. Nat. Agro., EL Harrach, 109 p.
- Kellouche A., 2005. Etude de la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera Bruchidae), physiologie, reproduction et lutte. Thèse Doctorat d'état en Science Naturel. Univ. T.O.Z. Spécialité : Entomologie, 216p.
- Kellouche A. et Soltani N., 2004. Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* F. *International Journal of Tropical Insect Science.* N° 2, Vol. 24, pp.184-191.
- Kellouche A., Soltani N., Kreiter S., Auger J., Arnold I. et Kreiter P., 2004 a. Biological activity of four vegetable oils on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera Bruchidae).In *REDIA*, LXXXVII, pp. 39-47.
- Kellouche A., Soltani N. et Huignard J. 2004 b. Activité de reproduction et capacité de développement de la descendance de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera : Bruchidae) dans des graines de différents cultivars de *Vigna unguiculata* (Walp) et de *Cicer arietinum* (L.).
- Keita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Amason J.T. et Belanger A., 2001. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to contrpl *Callosobruchus maculatus* (Fab.)(Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* Vol. 37, pp. 339-349.
- Ketoh G.K., Glitho A.I. et Huignard J., 2002. Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (F). and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rond) (Hymenoptera: Pteromalidae). To three essential oils. *J. Econ.Entomol.* 95, pp. 174-182.
- Khalfi O., 1983. Biologie de la reproduction de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera Bruchidae). Effet de trois insecticides de synthèse sur la reproduction. Thèse Magister Inst. Nat. Agronomie, El Harrach, Alger, 87p.

- Kigel J., 1999. Culinary and nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* seeds as affected by environmental factors. *In Biotechnol. Argon. Soc. Environ.* N°4. Vol.3, pp. 205-209.
- Kocourek J., 1986. Historical background in the lectins: properties, functions and applications in biology and medicine. Orlando (USA): Liener I.E., Sharon N., Goldstein I.J., *Academic press. Inc*, pp. 3-34.
- Kornegay J., Cardona C. et Posso C.E., 1993. Inheritance of resistance to mexican bean weevil in common bean, determined by bioassy and biochemical tests. *Crop. Science* Vol. 33, pp. 589-594.
- Kossu D.K. et Aho N., 1993. Stockage et conservation des grains alimentaires tropicaux : principes et pratiques. Ed. *Flamboyant*, Cotonu, Benin, 125 p.
- Kostukovsky M., Ravid U. and Shaaya E., 2002. The potential use of plant volatils for the control of stored product insects and quarantine pests in pests in cut flowers. *Proc. And. Conf. on MAP. Ed. J. Bernath & al.*, pp. 347-353.
131. Knuckles B.E., Kuzmicky D.D., Gumbmann M.R. et Betschart A.A., 1989. Effet of myo- inositol phosphat esters on in vitro and in vivo digestion of protein. *J. Food. Sci.*, Vol. 54, pp. 1348-1350.
- Kumar M.A., Timm D.E., Neet K.E., Owen W.G., Peumans W.J. et Rao A.G., 1993. Characterization of the lectin from the bulbs of *Eranthis hyemalis* (Winter aconite) as an inhibitor of protein synthesis. *J. Biol. Chem.* N°33, Vol. 268, pp. 25176-25183.
- Labeyrie V., 1981. Vaincre la carence protéique par le développement des légumineuses alimentaires et la protection de leurs récoltes contre les bruches. *Food Nutr. Bull.*, N°1, Vol. 3, pp. 24-38.
- Labeyrie V., 2005. Vaincre la carence protéique par le développement des légumineuses alimentaires et la protection de leurs récoltes contre les bruches. In *Post –Harvest Conservation of food*.16p.
- Laskowski M.J. and Kato I., 1980. Protein inhibitors of proteinases. *Pnnu. Rev. Biochem.* Vol. 49, pp. 593-626.
- Lepesme P., 1944. Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. Paul Le Chevalier, Paris, 335p.
- Lee R.E., Lee M.R., Strong G. et Gunderson J.M., 1993. Insect cold Hardiness and ice nucleating active microorganismes including their potential Use for biological control. *J. Insect Physiol.* N°1, Vol. 39, pp.1-12.
- Lee S.C., Gepts P.L. et Whitaker J.R., 2002. Protein structures of common bean (*Paseolus vulgaris*) #- amylase inhibitors. *J. Agric. Food Chem.* N°22, Vol. 50, pp. 6618-27.
- Lienard V. et Seck D., 1994. Revue des méthodes de lutte contre *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) 21p.
- Liener I.E., 1986. Nutritional significance of lectins in the diet the lectins (Liener I.E., Sharon N. et Goldstein I.J.: editors). *Academic Press*, New York, USA, pp. 527-552.
- Liener I.E., 1982. Toxic constituents in legumes. In *Arora S.K. chemistry and biochemistry of legumes*. New Delhi. India/ oxford and IBH, p.217.
- Lioi L. et Bollini R., 1989. Identification of a new arcelin variant in wild bean seeds. *Bean Improvement Cooperative* 32, 28p.

- Lioi L., Sparvoli F., Galasso I., Lanave C. et Bollini R., 2003. Lectin-related resistance factors against bruchids evolved through a number of duplication events. *Theor. Appl. Genet.* N°5, Vol.107, pp.814-22.
- Lis H. et Sharon N., 1986. Biological properties of lectins in *The lectins: properties, functions and applications in biology and medicine*. Orlando (USA): Liener I.E., Sharon N., Goldestein I.J., *Academic press. Inc.*, pp. 266-293.
145. Loris R., Steyaert J., Maes D., Lisgarten J., Pickesgill R. And Wyns L., 2003. Crystal structure determination and refinement at 2,3 angstroms resolution of the lentil lectin. *Biochemistry* 32, pp. 8772-8781.
- Loris R., 1999. The PHA-family from *Phaseolus vulgaris* pp. in *Crystal studies of lectin*. VUB-ULTR, *Paardens traat* 65, B-1640 Sint- Genesius Rode. pp. 27-32.
- Louda S. et Mole S., 1991. Glucosinolates: chemistry and ecology. In *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Eds. G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum) New York: *Academic press*, Vol. I, pp. 124-164.
- Louis S., 2004. Diversité structurale et d'activité biologique des albumines entomotoxiques de type 1b des graines de légumineuses. Thèse Doctorat, Inst. Nat. des Sciences appliquées de Lyon. Option : analyse et modélisation des systèmes biologiques. Paris. 260p.
- Malaikozhudan B., Suresh P., Seshadri S. et Janarthanan S., 2003. Toxicity assessment of wild bean seed protein-arcelin on Asian armyworm, *Spodoptera litura* (Fabricius). *Indian J. Exp. Biol.*, N°12, Vol. 41, pp.1436-5.
- Mankin R.W., Shuman D. et Weaver D.K., 1998. Thermal enhancement of acoustic Detectability of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) larvae. Ed. *United States Department Of Agriculture. Agricultural Research Service*. N°3, Vol.24, pp. 1269-70.
- M.A.P, 2006. Statistiques agricoles, superficies et production, série B, M.A.P. Algérie.
- Martin-Cabrejas M.A., Esteban R.M., Waldron K.W., Maina G., Grant G., Bardoz S. et Pusztai A., 1995. Hard to cook phenomenon in beans: Changes in antinutrient factors and nitrogenous compounds during storage. *J. Sci.Food Agri.* Vol.69, pp.429-435.
- Martoja M. et Martoja R., 1967. Initiation histologique aux techniques de l'histologie animale. Masson & Cie. 345p.
- Mc Gauchey W.H. et Akins R.G., 1989. Application of modified atmospheres. In frame grain storage bins. *J. Stored. Prod. Res.* Vol. 25, pp. 201-210.
- Melo F.R., Sales M.P., Silva L.S., Franco O.L., Bloch C.J. and Ary M.B., 1999. Alpha-amylases from cowpea seeds. *Prot. Pept. Lett.* Vol. 6, pp. 387-392.
- Mikolajczak K.L., Madrigal R.V., Smith J.C.R. and Reed D.K., 1984. Insecticidal effects of cyanolipids on three species of stored product insects, European corn borer (*Lepidoptera: Pyralidae*) larvae, and striped cucumber beetle (*Coleoptera: Chrysomelidae*). *J. Econ. Entomol.* Vol. 77, pp. 1144-1148.
- Mills J.T., 1990. Protection des grains et de graines oléagineuses stockées à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. *Minist, Approv, Serv, Canada, Agrican. Public*, N° 1851, 49p.

- Minney B.H.P., Gatehouse A.M.R., Dobie P., Dendy J., Cardona C. et Gatehouse J.A., 1990. Biochemical bases of seed resistance to *Zabrotes subfasciatus* (bean weevil) in *Phaseolus vulgaris* (Common bean): a mechanism for arcelin toxicity. *J. Insect Physiol.* Vol. 36, pp. 757-767.
- Mirkov T.E., Wahlstrom J.E., Hagiwara K., Finardi-Filho F., Kjemtrup S. et Chrispeels M.J., 1994. Evolutionary relationships among proteins in the phytohemagglutinin-arcelin –# amylase inhibitors family of common bean and its relative. *Plant Mol. Bio.* Vol. 26, pp.1103-1113.
- Mohiuddin S., 1990. Studies on the repellent activity of some indigenous plant oils against *Tribolium castaneum* (Herbs). *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* N°8, Vol. 33, pp. 326-328.
- Montecucco C., 1998. Protein toxins and membrane transport. *Curr. Opin. Cell. Biol.* Vol.10, pp.530-536.
- Mosse J. et Pernollet J.C., 1982. Storage proteins of legum seeds. In ARORA S.K. *Chemistry and Biochemistry of legumes*, I.B.H. Publishing co.; Oxford, 1983, pp.111-193.
- Mouhouche Sadaoui F., 2005. Identification des facteurs de la sensibilité variétale du pois chiche aux attaques d'un ravageur de stockage adapté *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae) et non adapté *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera : Curculionidae). 50, 100 et 200ml.
- Mouhouche F. et Fleurat-lessard F., 2003. Sensibilité de quelques variétés de pois chiche aux attaques de *Sitophilus oryzae* L. et *Callosobruchus maculatus* F. N°5, 15p.
- Moura F.T., Oliveira A.S., Macedo L.L.P., Andre L.B.R., Vianna, Andrada L.B.S. Martin M.A.S., Jose T.A., Santos E.A. et Sales M.P., 2007. Effet of chitin binding vicellin from enterolobium contortisiliquum seeds on bean Bruchid Pests (*Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus*) and phytopathogenic fungi (*Fusarium solani* and *colletrichum lindemuntianum*). *J. agri. Food Chem.* Vol. 55, pp. 260-266.
- Mourey A., Pedelacq J.D., Birck C., Fabre C., Rougé P. et Samama J.P., 1998. Crystal structure of the arcelin-1 dimer from *Phaseolus vulgaris* at 1,9 Å Resolution. *J. Biol. Chem.*, Issue 21, Vol.273 pp. 12914-12922.
- Mourey A., 2004. Manuel de nutrition pour l'intervention humanitaire. *Comité international de la croix rouge*. 724p.
- Muller-Riebau F., Berger B., Yegen O. et Cakir C., 1997. Seasonal variations in the chemical composition of essential oils of selected aromatic plants growing wild Turkey. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* Vol. 45, pp. 4821-4825.
- Multon J.L., 1982. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Ed. Lavoisier, Tec & Doc. APRIA. T.1 Paris, pp. 394-412.
- Muzquiz M., Burbano C., Ayet G., Pedrosa M.M. et Cuadrado C., 1999. The investigation of antinutritional factors in *Phaseolus vulgaris*. Environmental and varietal differences. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* N° 4, Vol. 3, pp. 210-216.

- Nagata K., Kudo N., Abe k., Arai S et Tanokura M., 2000. Three-dimensional solution structure of oryzacystatin-I, a cysteine proteinase inhibitor of the rice, *Oryza sativa* L. *Japonica Biochemistry*. Vol.39, pp. 14753-60.
- Neupane F. P. et Norris D.M., 1990. Indo-acetic acid alteration of soybean resistance to the *Cabbage looper* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Environ. Entomol.* Vol.19, pp. 215-221.
- O'Dell B.L. and De Boland A., 1976. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meal. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 24, pp.804-808.
- Olsnes S., Wesche J. et Falnes P., 1999. Binding, uptake, routing and translocation of toxins with intracellular sites of action. In *The comprehensive Sourcebook of bacterial protein toxins*, (Eds. J.E. Alouf and J.H. Freer) London: Academic Press, pp. 73-93.
- Osborn T.C., Blake T., Gepts P. et Bliss F.A., 1986. Bean arcelin2. Genetic variation, inheritance and linkage relationships of a novel seed protein of *phaseolus vulgaris* L., *Theoretical and applied Genetics*.Vol. 71, pp.847-855.
- Osborn T.C., Alexander D.C., Sun S.S.M., Cardona C. et Bliss F.A., 1988. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein science .Vol. 240: 207-210.
- Ouedraogo A.P., Sou S., Sanon A., Monge J.P., Huignard J., Tran M.D. et Credland P.F., 1996. Influence of the temperature and humidity on population of *Callosobruchus maculatus* (*Coleoptera: Bruchidae*) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (*Pteromalidae*) in two zones of Burkinafaso. *Bull. Entomol. Research*. Vol.86, pp. 695-702.
- Pacheco I.A., 1990. Resistance to malathion, pirimiphos-methyl and fenitrothion in coleopteran from stored grain. In Filleurat-Lessard F., Ducon P., Editors. Proc 5 Th. *Int. Working. Confer. Stored product. Prot.*, Bordeaux, France, Vol.2, pp. 1029-1037.
- Padin S.B., Dal G.M. et Vasicek L., 1997. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* for adults of *Tribolium castaneum* (*Coleoptera: Tenebrionidae*) In stored grains. *Entomophaga*. Vol. 42, N° 4, pp. 569-574.
- Pereira J. et Wohlgmuth R., 1982. Neem (*Azadirachta indica*) of West African origin as a protectant of store maize. *Z.Arg. Ent.*, N° 94. pp. 208-214.
- Peumans W.J. et Van Damme E.G.M., 1995. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiologie*. Vol. 109, pp. 347-352.
- Prabu M.M. Sankanarayanan R., Puri K.D., Sharma V., Surolia A., Vijayan M. et Suguna K., 1998. Carbohydrate specificity and quaternary association in basic winged bean lectin X-ray analysis of the lectin at 2.5Å°. *J. Mol. Boil.* Vol. 276, pp.787-796.
- Pusztai A., Clarke E.M.W., King T.P. et Stewart J. C, 1979. Nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*): Chemical composition, lectin content and nutritional value of selected cultivars. *J. Sci. Food Agric.* Vol. 30: pp.843-848.
- Pusztai A., Begbie R., Grant G., Ewen S.W.B. et Bardocz S., 1993. Indirect effects of food antinutriments on protein digestibility and nutritional value of diets. In: *M.F.Fuller* (Ed), *In vitro digestion for pigs and poultry.* Cab international, Wallingford, UK. Pp.45-61.
- Raccaud- schoeller, 1980. Les insectes: Physiologie et Développement. Ed. Masson, Paris, 296p.

- Rahbé Y., Febvay G. et Kermarrec A., 1988. Foraging activity of the attine ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich)) (*Hymenoptera: Formicidae* on resistant and susceptible yam varieties. *Bull. Entomol. Res.* Vol. 78, pp. 329-337.
- Raja N., Albert S., Ignacimuthu S. & Dorn S., 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) against *Callosobruchus maculatus* (*Coleoptera: Bruchidae*) infestation. *J. Stored. Prod. Res.* Vol. 37, pp. 127-132.
- Rajapakse R. and Van Amden H.F., 1997. Potential of four vegetable oils and ten botanical powders for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis* and *C. rhodesianus*. *J. Stored. Prod. Res.* N°5, Vol. 33, pp. 59-68.
- Ramzan M., 1994. Efficacy of edible oils against pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.), *J. Insect Sci.* Vol.7, pp. 37-39.
- Rezkallah H., 1998. Comportement de quelques variétés de pois chiche *Cicer arietinum* L. vis-à-vis des attaques de *Callosobruchus maculatus* L. (*Coleoptera : Bruchidae*) thèse Ing. Agr., Int. Nat. Agro. El harrach.
- Richardson M., 1991. Seed Storage Proteins- The Enzyme Inhibitors In *Methods In Plant Biochemistry*, New York: *Academic Press*, Vol. 5, pp. 259-305.
- Ridet J.M., 1992. Des protozoaires aux échinodermes. Ed. *Marketing, Paris*, 223p.
- Rodrigues Macedo M.L., Coelho M.B., Machado Freire M. Das Gracias, Macado O.L.T., Marangoni S. et Novello J.C., 2000. Effect of a toxic Protein Isolated from *Zea mays* seeds on the development and survival of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Protein and peptid letters.* N°4, Vol.7, pp.225-231.
- Rosenthal G.A., 1982a. Plant non-protein amino and amino acids, *New York: Academic Press*, Vol. 3, pp.57.
- Rosenthal G.A., 1982b. Secondary plant metabolites-round table discussion In *5 th International Symposium on Insect Plant Relationships*, Eds. J.H. Visser and A.K. Minks, pp. 331-334.
- Rougé P., Barre A., Coulon A., lioulès –Astoul C. et Menu-Bonaouich L., 2004. Lectines et reconnaissance.2p.
- Sales M.P., Gerhardt I.R., Grossi –de – sa M.F. and Filho J.X., 2000. Do legume storage proteins play a role in defending seeds against Bruchids? *In plant Physical*, Vol. 124: pp.515-522.
- Samac D.A., and Shah D.M., 1991. Developmental and Pathogen- Induced Activation of the *Arabidopsis* Acidic Chitinase Promoter. *Plant Cell.* Vol. 3, pp. 1063-1072.
- Santimone M., Koukiekolo R., Moreau Y., Le Berre V., Rougé P., Marchi-Mouren G. et Desseaux V., 2004. Porcine pancreatic alpha amylase inhibition by the kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) inhibitor (alpha –AI1) and structural changes in the alpha – amylase inhibitor complex. *Biochem. Biophys. Acta* Vol.2. 181-90.
- Santino A., Valsasina B., Lioi L., Vitale A. et Bollini R., 1991. Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed lectins: a novel electrophoretic variant of arcelin. *Plant physiology (life sciences Advances)*.Vol. 10: pp.7-1.
- Sayaboc P.D. et Acda M.A., 1990. Resistance of the magor Coleopterous pests of stored grain to malathion and pirimiphos-methyl. *J. Entomol.*, Philippine, Vol. 8, N°1, pp. 653-660.

-
- Schiltz M., 1997. Utilisation du xéron et du Krypton pour la résolution du problème des phases par les méthodes du remplacement Isomorphe et de la diffusion Anormale PH. Thesis, university of Paris XI, Orsay. France.197p.
- Shahein A., 1991. Susccebility of some stored product insects to high and low temperatures. *Zagazig. J. Agri. Res. Egnot.* N°2. Vol.18, pp. 577-584.
- Schoonhoven A.V., Cardona C. et Valor J., 1983. Resistance to the bean weevil and the mexican bean weevil (*Coleoptera: Bruchidae*) in non- cultivated common bean accessions. *Journal of economic Entomology.* Vol.75: pp.567-569.
- Seck D., Lognay G., Haubruge E., Wathel J.P., Marlier M., Gaspar M. et Severin M., 1993. Biological activity of the shrub *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. Ex Poir (Capparaceae) on stored grain insects. *J. Chem. Ecol.* Vol. 19, pp.377-389.
- Shakoori A.R., Malik M.Z. et Salem M.A., 1993. Toxicity of Karate to Malathion resistant Pakistan strain of *Tribolium castaneum* (Herbst) adults, Pkistan. *J. Zool.*, Vol.25, pp. 261-271.
- Sharon et Lis, 1990. Lectins as cell recognition molecules. *Science.* Vol. 246, pp.227-234.
- Shewry P.R., Napier J.A. et Tatham A.S., 1995. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *Plant Cell.* Vol.7:pp. 945-956.
- Shih C., Gepts P.L. et Whi taker J.R., 2002. Proteins structures of common bean *Phaseolus vulgaris*. *J. Agrc. Food Chem.* Vol. 50, pp.6618-6627.
- Singh H.R. et Taylor T.A., 1978. Pests of grain legumes: Ecology and control Edition Singh S.R., Van Emden H.F. and Taylor T.A. *Academic Press*, New York, 454p.
- Singh S.R. et Van Emden H.F., 1979. Insect pests of grain legumes. *Ann. Rev. Entomol.* Vol. 24: pp.255-278.
- Sinha R.H. et Watters F.L., 1985. Insectes des minoteries, des silos – élévateurs. 311p.
- Smith, 1993. Plant resistance to insects: a fundamental approch. New York: John Wiley & Sons, Ed.Wiley, 270p.
- Soltner D., 1990. Les bases de la reproduction végétale. Sol, Climat, Plante. Ed. Lavoisier, 464p.
- Southgate B.J., 1983. Observations on the larval emergence in species of the genus *Callosobruchus maculatus* (*Coleoptera: Bruchidae*). *Entom. Gen.*, Vol. 8, pp.3-4.
- Southgate B.J., 1978. The importance of the bruchidae as pests of grain legumes, their distribution and control. In *Pests of Grain Legumes: Ecology and Control.* *Academic Press*, London. pp. 219-229.
- Sparvoli F., Lanave C., Santucci A., Bolini R. and Lioi L., 2001. Lectin and lectin-related proteins in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) seeds: *biochemical and evolutionary studies.* *Plant Mol. biol.* N°5, Vol. 45, pp.587-597.
- Stamopoulos D. et Huignard J., 1980. Influence des diverses parties de la graine de haricot (*Phaseolus vulgaris*) sur le développement des larves d'*Acanthoscelide obtectus*Say (*Coleoptera : Bruchidae*). Envoyé pour publication dans *C.R. Acad. Sc.* Paris. Pp.231-246.
-

- Surech S., Fields P.G. et Hou X., 2006. Effet insectifuge, antiappétant et toxique des graines de cinq espèces de légumineuses sur trois espèces d'insectes ravageurs des produits entreposés. *Agriculture et Agroalimentaire Canada, centre de recherche sur les céréales*. www.pfields@arg.gc.ca
- Talukder F., Malik M., Khanam L.A. M. et Dey K.C., 1998. Toxicity of some indigenous plant seed against *Tribolium confusum* (Coleopterans- Tenebrionidae). 113p.
- Thomma B.P.H.J., Cammue B.P.A. et Thevissen K., 2002. Plant defensins. *Planta*. Vol. 216, pp.193-202.
- Tufail N., Salem A. et Shakoori A.R., 1994. Biochemical changes in six (th) Instar larvae of PAK and FSS II strains of red flower beetle *Tribolium castanum* (herbst) (Coleoptera- Tenebrionidae) following administration of sublethal doses of a synthetic pyrethrinoid bifenthrin. *J. Zoo.*, Pakistan, Vol. 26, N° 3. PP. 197-206.
- Utida S., 1954. Phase dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus*. *Jap. J. App. Zool.* Vol. 18, pp.161-168.
- Wato S., Kamei K., Arakwa T., Philo J.S., Wen J., Hara S. et Yamaguchi H., 2000. A chimera –like- #- amylase inhibitor suggesting the evolution of *Phaseolus vulgaris*. # amylase inhibitor. *J. Biochem.* (Tokyo). Vol.128, pp.139-144.
- While N.D.G. et Jayas D.S., 1991. Effect of periodically elevated carbon dioxide on stored wheat ecosystems at cool temperatures (*Ahsverus advena*, *Tarsonemus granaries*, *Parathryphydeus coleanis*, *Lepidoglyphus destructor*, *Aeroglyphus volustus*). In Fleurat Lessard F. & Ducom P. Ed. *Procs. Th. Int. Workin, Conf. Stored Product Protect.* Bordeaux, France, 9-14 September, Vol.2, pp. 925-933.
- Wilkin D.R. et Chambers J., 1987. Methods of detecting insects in grain. *Ann. Conf. Int. Ravageurs, ANPP.* Paris, pp.489-496.
- Wirsta P., Le Cornu C. et Lance C., 1996. Evaluation d'une nouvelle méthode immuno-enzymatique destinée à estimer la contamination de lots de Blé et de farine par les insectes. *Rev. Industrie des céréales. Assoc. Prog. Indus. Cereal.* N°96. pp. 29-32.
- Wolfson J.L., 1982. Developmental responses of *Pieris rapae* and *Spodoptera eridania* to environmentally induced variation in *Brassica nigra*. *Environ. Entomol.* Vol.11, pp. 207-213.
- Woodhead S. et Chapman R.F., 1986. Insect behaviour and the chemistry of plant surface waxes. In *Insect and the plant surface*, (Eds. B.Juniper and T.R.E. Southwood) London: Edward Arnold, pp. 123-135.
- Wooley J.G., 2001. Plant alkaloids. In *Encyclopedia of life sciences Nature Publishing Group*, pp.1-11. (www.els.net):
- Xavier- filho J., 1993. Sementes e suas defesas contra insectos. Projeto Multinacional de *Biotechnologia e alimentos, Organizacao dos Ectados Americanos, Imprensa universitaria*: Fortaleza, Brazil. Pp. 1-31.
- Yamagata H., Kunimatsu K., Kamasaka H., Kuramoto T. and Iwasaki T., 1998. Rice bifunctional alpha- amylase/subtilisin inhibitor: characterization, localization and changes in developing and germinating seeds. *Biosc. Biotechnol. Biochem.* Vol. 62, pp. 978-985.

-
- Yamamoto K., Konami Y. et Osawa T. et Irimura T., 1992. Carbohydrate- binding peptides from several anti-H (O) lectins. *J. Biochem.* Vol. 111: 436-439.
- Yamamoto K., 1994. Structure and fonction of lectins and lectin- carbohydrate interactions. *In Glycoword proteins.* Vol. 66, pp. 1111-1129.
- Yamamoto K., Konami Y. et Osawa T., 2000a. Chimeric lectin of *Brauhinia purpurea* lectin and *Lens culinaris* lectin recongnizes unique carbohydrate structure. *J. Biochem.* Vol.127, pp. 129-135.
- Yamamoto K., Maruyama I.N. et Osawa T., 2000b. Cyborg lectins: Novel leguminous lectins having unique specificities. *J. Biochem.* Vol. 127, pp.137-142.
- Young N.M., Thibault P., Watson D.C. et Chrispeels M.J., 1999. Post- translational processing of two #-amylase inhibitors and an arcelin from the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *FEBS Lett* Vol. 446, pp. 203-206.
- Yubero-Serrano E.M., Moyano E., Medina-Escobar N., Munoz-Blanco J. et Caballero J.L., 2003. Identification of a strawberry gene encoding a non-specific lipid transfer protein that responds to ABA, wounding and cold stress. *J. Exp. Bot.* Vol. 54, pp. 1865-1877.
- Yunes A.N.A., Andrade M.T., Sales M.P., Morais R.A., Fernandes K.V.S., Gomes V.M. et Xavier-Filho J., 1998. Legme seed vicilins (7S storage proteins) interfere with the development of the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* F.). *J. Sci. Food Agric.* Vol. 76, pp. 111-116.
- Zambre M., Goossens A., Cardona C., Van Montagu M., Terryn N. et Angenon G., 2005. A reproducible genetic transformation system for cultivated *Phaseolus acutifolius* (Tepary bean) and its use to assess the role of arcelins in résistance to the Mexican bean weevil.