

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE

EL HARRACH – ALGER

THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT D'ETAT

EN SCIENCES AGRONOMIQUES

THEME

**APPLICATION D'UNE PROTEINE ENTOMOTOXIQUE PA1b DU POIS
ET D'UN AGENT ENTOMOPATHOGENE CONTRE *Sitophilus granarius* (L.)**

Présentée par : M. MEBARKIA Abdelkrim

Soutenue le 26 Décembre 2010

Jury :

Président	: M. SELLAMI Mahdi	Professeur. ENSA EL Harrach.
Directeur de thèse	: M. GUECHI Abdelhadi	Professeur. Université de Sétif.
Examineur	: M. HARZALLAH Daoud	Professeur. Université de Sétif.
Examineur	: M. BICHE Mohamed	Maître de Conférences. ENSA EL Harrach.
Examineur	: M. BOUNECHADA Mustapha	Maître de Conférences. Université de Sétif.

Année Universitaire 2009/2010

« Dans un domaine de recherche en pleine expansion comme l'agronomie, on constate que toute avancée des connaissances génère autant d'interrogations qu'elle apporte de réponses ».

Pierre Joliot.

Avant-propos

*Avant d'entreprendre l'exposé de ces recherches, je tiens à exprimer ma profonde et respectueuse reconnaissance à Monsieur **SELLAMI Mahdi**, Professeur à L'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques d'El Harrach pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de cette thèse.*

*Je suis reconnaissant à Monsieur **GUECHI Abdelhadi**, Professeur à l'université Ferhat Abbas de Sétif, qui a dirigé mes recherches avec beaucoup de dévouement et qui m'a toujours aidé et encouragé. Je lui suis très reconnaissant pour sa disponibilité, sa bienveillance et son soutien permanent, et d'avoir prêté un intérêt constant au sujet de la thèse. Je lui dois beaucoup pour le contenu du travail présenté, pour ces critiques constructives et son aide aux différentes entraves rencontrées, pour sa gentillesse et ses qualités humaines.*

*Qu'il me soit permis de remercier Messieurs **HARZALLAH Daoud**, Professeur à l'université Ferhat Abbas de Sétif ; **BICHE Mohamed**, Maître de conférences à L'Ecole Nationale des Sciences Agronomiques d'El Harrach et **BOUNNECHADA Mustapha**, Maître de conférences à l'université Ferhat Abbas de Sétif qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir accepter d'être membres de jury.*

*Monsieur **RAHBE Yvan**, Directeur de recherche de L' UMR INRA- INSA De Lyon (France), trouve ici l'expression de ma profonde gratitude de m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche et m'avoir offert les moyens et beaucoup de facilités techniques dans mes expériences sur l'effet de l'entomotoxine. Il m'a permis de valoriser mon travail au sein d'une équipe perspicace : Monsieur **GRESSENT Frédéric.**, Madame **RAHIOUI Isabelle.**, Madame **GRENIER Anne Marie.**, Mademoiselle **PINET Véronique.**, Monsieur **HEDDI Abdelaziz.**, que je remercie profondément.*

*Je remercie également Monsieur **JAOUA Samir.**, Professeur du laboratoire des bio pesticides du centre de biotechnologie de Sfax (Tunisie) de*

m'avoir aidé pour mener à bien mes expériences sur les bactéries entomopathogènes. J'exprime ma reconnaissance à toute l'équipe : Monsieur TOUNSI Slim, Monsieur ZOUARI Nabil, Monsieur AZZOUI Hichem, Monsieur JAMOUISSI Kais, Madame BELGHIT Najeh et Madame BELGHOUTI Aïcha.

Messieurs MEKHALIF Tahar, MAKHLOUF Mahfoudh., BOURAS Abdelhak., MOUFAK Charaf Eddine., HAFSSI Miloud., PINTUREAU Bernard, COLLELA Stefano, BENHSOUNA Anis, SAIBI Walid, JOUADI Bessam, CHOUIKHI Khaled, Madame KILANI Olfa, et mademoiselle SAADAOUI Imen, trouvent l'expression de ma profonde gratitude pour leur précieuse contribution ; sans oublier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de cette étude.

Je tiens également tout particulièrement à remercier ma famille, mes proches pour m'avoir supportée lors des passages difficiles et surtout mes parents qui m'ont toujours soutenu.

Tous ceux qui liront cette thèse et la feront vivre.

Dédicace

*Avec l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à
tous ce qui m'est chers*

Pour leur présence de tous les instants

Pour leur soutien qu'ils m'ont apporté

Avec toute mon affection et ma reconnaissance

Abdelkrim

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I. Revue bibliographique	5
1.1. Altération des grains de céréales stockées	5
1.1.1. Facteurs d'altération.....	7
1.1.2. Causes d'altération	11
1.2. Comportement des espèces de céréales aux ravageurs des stocks	17
1.2.1. Les insectes ravageurs des denrées.....	17
1.2.2. Relations Plantes-insectes.....	19
1.3. Contrôle du charançon du grain <i>Sitophilus granarius</i> L.....	30
1.3.1. Entomotoxines végétales	32
1.3.2. Entomopathogènes.....	36
Chapitre II. Bio détérioration du blé stocké dans la région de Sétif	40
2.1. Objectif.....	40
2.2. Matériels et méthodes	40
2.2.1. Analyse biologique du blé	40
2.2.2. Appréciation de la qualité du blé stocké.....	43
2.3 Résultats et discussion.....	48
2.3.1. Analyse microbiologique.....	48
2.3.2. Analyse acarologique et entomologique.....	49
2.3.3. Analyse physico-chimiques et technologiques.....	51
2.4 Conclusion.....	55
Chapitre III. Comportement des espèces de céréales aux ravageurs des stocks.....	56
3.1. Effet de la composition biochimique des espèces de céréales sur le comportement de <i>Sitophilus granarius</i> L. et <i>Rhyzopertha dominica</i> F. en zone semi-aride de Sétif.	56
3.1.1. Objectif.....	56
3.1.2. Matériels et méthodes	56
3.1.3. Résultats et discussion	57
3.1.3.1. Descendance moyenne viable par femelle.....	57
3.1.3.2. Durée moyenne de développement.....	60
3.1.3.3. Perte de matière sèche	64
3.1.4. Conclusion	65
3.2. Evaluation de la sensibilité de 12 variétés de blé tendre au <i>Sitophilus granarius</i> L.....	66
3.2.1. Objectif	66
3.2.2. Matériels et Méthodes	66
3.2.2.1. Matériel végétal	66
3.2.2.2. Matériel animal.....	66
3.2.2.3. Paramètres biologiques de <i>S.granarius</i> L et technologiques du blé.....	66
3.2.3. Résultats et discussion	67

3.2.4. Conclusion	75
Chapitre IV. Contrôle de <i>Sitophilus granarius</i> L.	76
4.1. Efficacité de la protéine du pois et les homologues de PA1b des graines de légumineuses sur <i>Sitophilus granarius</i> L.	76
4.1.1. Objectif	76
4.1.2. Matériels et méthodes	76
4.1.2.1. Matériel animal	76
4.1.2.2. Matériel végétal	76
4.1.3. Résultats et discussion	79
4.1.3.1. Détection électrophorétique de PA1b	79
4.1.3.2. Toxicité de PA1b du pois	80
4.1.3.3. Toxicité des homologues de PA1b des légumineuses	82
4.1.4. Conclusion	85
4.2. Potentiel bio contrôle de <i>Pseudomonas syringae</i> contre <i>Sitophilus granarius</i> L.....	86
4.2.1. Objectif	86
4.2.2. Matériels et méthodes	86
4.2.2.1. Matériel animal	86
4.2.2.2. Matériel biologique.....	86
4.2.3. Résultats et discussion	87
4.2.3.1. Effet des températures basses sur la mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L.....	87
4.2.3.2. Effet des doses de <i>Pseudomonas syringae</i> sur le taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L.....	89
4.2.3.3. Effet combiné des températures basses et des doses de <i>Pseudomonas syringae</i> sur le taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L.	90
4.2.4. Conclusion	92
Conclusion générale et perspectives	93
Références bibliographiques	97
Annexe	121
Résumés	122

Liste des tableaux

Tableau 1.	Différentes espèces du genre <i>Sitophilus</i> avec les aliments sur lesquels elles se développent.	18
Tableau 2.	Toxicité envers les différents ordres d'insectes des protéines des plantes à activité insecticide et des entomotoxines de <i>Bacillus thuringiensis</i>	33
Tableau 3.	Les espèces de ravageurs observés dans les stocks de blé dans la région de Sétif durant la campagne agricole 2004/2005.	49
Tableau 4.	Evaluation du degré d'infestation	50
Tableau 5.	Evaluation du taux d'attaque.	50
Tableau 6.	Evaluation des paramètres physiques du blé dur et du blé tendre pendant 3 mois de stockage.	52
Tableau 7.	Evaluation des paramètres chimiques du blé dur et du blé tendre pendant 3 mois de stockage.	53
Tableau 8.	Evaluation des paramètres technologiques du blé dur et du blé tendre pendant 3 mois de stockage.	54
Tableau 9.	Descendance moyenne viable par femelle et par jour selon le type de céréale (30°C et 14% de teneur en eau).	59
Tableau 10.	Durée moyenne de développement en jours de <i>Sitophilus granarius</i> L. et de <i>Rhyzopertha dominica</i> F. selon le type de céréale.	61
Tableau 11.	Analyse de la composition des différents types de céréales (teneur en g/100g).	62
Tableau 12.	Perte de matière sèche (%) induite par le développement de la descendance moyenne de <i>Sitophilus granarius</i> L. et de <i>Rhyzopertha dominica</i> F.	64
Tableau 13.	Les paramètres biologiques de <i>Sitophilus granarius</i> L. et technologiques des variétés de blé tendre.	69
Tableau 14.	La matrice de corrélation	70
Tableau 15.	Description des groupes de variétés de blé tendre.	74
Tableau 16.	Espèces de légumineuses testées	77
Tableau 17.	Températures hivernales enregistrées en région semi-aride des hautes plaines Sétifiennes de l'année 2003 à 2008.	87

Liste des figures

Figure 1.	Ecosystème du grain stocké	6
Figure 2.	Diagramme de conservation des céréales	10
Figure 3.	La structure tridimensionnelle de la protéine PA1b	34
Figure 4.	Relations phylogénétiques putatives entre tribus au sein des Papilionoïdeae.	35
Figure 5.	Schéma général d'une cellule de stockage	41
Figure 6.	Analyse en composante principale de la distribution des paramètres sur les axes factoriels.	71
Figure 7.	Analyse en composante principale de la distribution des paramètres et des variétés.	72
Figure 8.	Classification ascendante hiérarchique de la description du dendrogramme.	72
Figure 9.	Analyse en composantes principales la répartition des variables sur les principaux facteurs.	73
Figure 10.	SDS-PAGE révélé à l'argent sur les fractions MeOH60 du pois.	80
Figure 11.	Mortalité cumulée (%) des adultes de <i>Sitophilus granarius</i> L sur blé (témoin) et sur pois en fonction des concentrations (0.001, 0.01, 0.1, 1,10%) et de la durée d'alimentation.	81
Figure 12.	Mortalité cumulée (%) des adultes de <i>Sitophilus granarius</i> L sur les espèces de légumineuses à une concentration de 1 % en fonction du temps.	83
Figure 13.	Mortalité cumulée (%) des adultes de <i>Sitophilus granarius</i> L sur les espèces de légumineuses à une concentration de 10% en fonction du temps.	84
Figure 14.	Influence de la température et de la durée d'exposition sur la mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L.	88
Figure 15.	Evolution du taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L. en fonction des températures basses pendant 48h d'exposition.	89
Figure 16.	Evolution du taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L. en fonction des doses de <i>Pseudomonas syringae</i> pendant 48h d'exposition.	90
Figure 17.	Evolution du taux de mortalité de <i>Sitophilus granarius</i> L. en fonction des doses de <i>Pseudomonas syringae</i> et des températures basses pendant 48h d'exposition	91

Liste des Abréviations

Aa	: Acide aminé
ACP	: Analyse en composante principale
AFNOR	: Association Française de Normalisation
Cfu	: Colony forming unit
ERIAD	: Entreprise Régionale des Industries Agro-alimentaires et Dérivés.
FAO	: Food and Agriculture Organization
Féc	: Fécondité
Glu	: Glucide
Hg	: Humidité du grain
Hr	: Humidité relative
Ic	: Indice de croissance
ICARDA	: International Center for Agriculture Research in the Dry Areas.
INRA	: Institut National de la Recherche Agronomique de France
INSA	: Institut National des Sciences Appliquées de France
ITGC	: Institut Technique des Grandes Cultures.
Iz	: Indice de sédimentation (test de zeleny)
kDa	: Kilo Dalton
M,m	: SDS molecular weight marker : marqueur de poids moléculaire
MeOH60	: Fraction de farine de pois soluble au méthanol 60%
mg	: Milligramme
ml	: Millilitre
NA	: Norme Algérienne
OGA	: Oxytétracycline Gélose Agar
ONM	: Office National de Météorologie
PA1b	: Pea albumine subunit 1
PMG	: Poids de mille grains
PP	: Perte de poids
Pro	: Protéine
SDS	: Sodium Dodecyl Sulfate
SDS-AGE	: SDS Polyacrylamide gel electrophoresis
SRA1M60	: Fraction albumine de la farine de pois, extraite au méthanol 60%
µg	: Microgramme
µl	: Microlitre
var	: Variété

Introduction générale

L'autosuffisance alimentaire ! Depuis les années 1970-1980, cette expression revient dans les discours politico-économiques traitant du développement du tiers-monde. Une dizaine d'années environ après les indépendances, la concordance de phénomènes économiques et démographiques très défavorables aux économies fragiles a conduit au retour en force de la sous-alimentation, de la malnutrition et même de la famine (Parpentier et Fouabi, 1988).

Ces mêmes auteurs notent que le concept autarcique d'autosuffisance alimentaire d'un état, d'une région et même d'un continent est apparu, traduisant une préoccupation majeure ancestrale et peu surannée : un territoire doit nourrir ses habitants, en qualité et en quantité. La première réponse des scientifiques et des acteurs économiques à cette interpellation a été le développement de la production agricole : réponse essentiellement agronomique, mobilisant les spécialistes. Grâce aux ressources de la génétique, de la phytochimie et de l'hydraulique, des systèmes performants de production ont été mis au point, tout particulièrement dans les cultures des céréales, constituant de base de nos systèmes alimentaires.

Le blé représente la principale source d'alimentation pour plus de la moitié de la population mondiale. La politique mondiale de sécurité alimentaire, devrait prendre en compte la nécessité d'augmenter la production actuelle qui est de 675 millions de tonnes, pour atteindre pratiquement le double, si l'on veut nourrir une population qui, en 2050 approchera 9,1 milliards d'habitants (Anonyme, 2009). Augmenter sa production est devenu un objectif majeur pour les organismes de sécurité alimentaire. Pour atteindre cet objectif dans les années à venir, une approche multifactorielle permettant à la fois d'augmenter la quantité de blé produite sous des conditions favorables et défavorables, mais aussi de limiter les pertes de rendement dues aux maladies et aux attaques d'insectes est indispensable (Khush, 2005).

L'amélioration variétale, appuyée par les biotechnologies, permettent déjà de proposer des solutions pour lutter contre les virus, champignons, bactéries et insectes se développant aux champs sur le blé (Bajaj et Mohanty, 2005). Plusieurs catégories d'insectes attaquant les grains de céréales depuis la récolte jusqu'à la consommation. Dans le cas du blé, ces insectes peuvent occasionner des pertes considérables, allant jusqu'à 50 %. Ces ravageurs détériorent

Introduction générale

les grains en se nourrissant de l'albumen, causant des pertes de poids et de qualité, et de l'embryon, provoquant une baisse du taux de germination des lots de grains.

Deux catégories d'insectes se développent sur les stocks de grains peuvent être différenciées : les ravageurs primaires qui sont capables de forer et de s'alimenter à partir de grains intacts, et les ravageurs dits secondaires, qui se nourrissent de grains dont l'enveloppe a déjà été percée. Il est donc difficile de chiffrer les pertes de rendement directement imputables aux charançons des céréales car ce sont des primaires qui vont forer dans les enveloppes du grain donnant ainsi à différents champignons et bactéries, un accès à l'albumen. Ces ravageurs secondaires vont à leur tour contribuer à la dégradation des grains stockés.

Lutter contre les ravageurs primaires des grains serait une stratégie efficace pour réduire les pertes de rendement lors de stockage car elle empêcherait ces insectes de se nourrir du grain tout en limitant les détériorations dues aux ravageurs secondaires.

La rapidité du développement larve-adulte, le fort taux de reproduction et les conditions de cultures optimales correspondant aux zones de cultures du blé font de *Sitophilus granarius* L. une menace majeure pour les grains de blé lors de leur stockage. Les pesticides sont les plus communément utilisés pour lutter contre le charançon du blé. Ces traitements sont efficaces, peu onéreux et aisément disponibles dans les pays en voie de développement où 90 % de la production mondiale du blé est réalisée (Kouassi, 2001).

Cependant, l'utilisation du bromure de méthyle, une substance contribuant à la dégradation de la couche d'ozone, a été interdite selon le protocole de Montréal (Anonyme, 1987) à partir de 2005 pour les pays développés et son utilisation doit cesser dans les pays en voie de développement au plus tard en 2015. La phosphine est ainsi devenue le pesticide volatile le plus utilisé, mais des applications inappropriées ont favorisé le développement de forts niveaux de résistance dans différentes populations de charançons (Daglish, 2004).

Par conséquent, trouver une alternative pour contrôler efficacement ce ravageur majeur du blé est devenu impératif. A ce jour, peu de données sont disponibles concernant l'exploitation de la diversité génétique du blé et son utilisation dans des programmes d'amélioration variétale afin d'augmenter la résistance des grains envers *Sitophilus*. De nouveaux produits chimiques permettant de lutter contre les infestations du charançon se

sont avérés être toxiques pour les hommes et pour les animaux (Rajendran et Muralidharan, 2005).

L'activité biologique d'extraits de plantes en tant que fumigant, comme les huiles essentielles (Lee *et al.*, 2001 ; Tripathi *et al.*, 2002) et les grains de neem (Koul, 2004) et l'effet abrasif de la terre à diatomées contenue dans des formulations commerciales (Arthur et Throne, 2003 ; Athanassiou *et al.*, 2005) ont été testés sur *Sitophilus oryzae* L. et rapportés comme étant toxiques pour les charançons adultes. Cependant, les larves qui se développent à l'intérieur du grain jusqu'au stade adulte sont protégées des effets fumigants et de l'effet abrasif de la terre diatomées. Ainsi, le développement de plantes transgéniques exprimant des protéines insecticides dans les grains pourrait être une stratégie prometteuse permettant une protection complète contre le *Sitophilus* sp en ciblant à la fois ses stades larvaires et adultes.

Plusieurs publications ont rapporté l'effet insecticide de la farine de pois sur *Sitophilus oryzae* (Hou et Fields, 2003 ; Pretheep-Kumar *et al.*, 2004 ; Fields, 2006). Cette toxicité est principalement corrélée avec l'activité biologique d'une albumine majeure isolée à partir de grains de pois, PA1b (pea albumin 1 subunit b)(Gressent *et al.*, 2003). La forte activité entomotoxique de PA1b est aussi couplée à une forte stabilité de cette protéine. Elle est capable de conserver son activité biologique pendant plusieurs années dans des graines sèches (Petit *et al.*, 2005) . La forte toxicité de la protéine PA1b envers les charançons des grains, sa stabilité lors du stockage et de la dessiccation des graines, associées au fait qu'elle soit consommée en quantité par l'homme et les animaux, sans signe de toxicité ni d'allergénicité, font de ce peptide un candidat idéal pour produire des plantes transgéniques, en particulier des céréales, résistant aux coléoptères ravageurs des stocks (Louis *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2004). De plus, ces mêmes auteurs notent que la coexistence de plusieurs isoformes de la protéine PA1b chez le pois comme chez d'autres fabacées permet de définir les isoformes de la protéine PA1b comme une nouvelle classe d'entomotoxines végétales.

Bien que plusieurs classes de toxines de *Bacillus thuringiensis* présentent une activité entomopathogène vis-à-vis des coléoptères, très peu de publications ont rapporté la création de plantes transgéniques résistantes à des insectes de cet ordre (De Maagd *et al.*, 2001). Ceci tient essentiellement au fait que ces toxines sont trop peu active pour permettre un contrôle efficace des coléoptères qui, de plus, ont un tube digestif peu pourvu en protéases indispensables à l'activation des toxines de *Bacillus thuringiensis*.

Introduction générale

La découverte d'une nouvelle classe de toxines bactériennes (*Erwinia herbicola*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas syringae*, etc...) comme insecticides biologiques très actives contre les principaux ravageurs des stocks, présenterait l'avantage de pouvoir envisager une protection durable des grains de céréales, notamment contre les charançons (Lee *et al.*, 1992). Ces mêmes auteurs notent que l'entomopathogène *Pseudomonas syringae* provoque non seulement une augmentation significative du point le plus frais de l'insecte, mais diminue l'efficacité du mécanisme naturel aux températures basses.

Dans le cadre de ce travail de thèse, le choix de ce ravageur pour notre présente étude se trouve justifié par l'importance des dégâts causés dans le monde et à l'échelle nationale.

Le travail que nous proposons de réaliser comporte quatre chapitres.

- Le premier chapitre introductif est une revue de la littérature, portant sur la problématique de l'écologie du stockage, la connaissance des phénomènes observés dans ce milieu, les conséquences de ces infestations et enfin la lutte contre toutes les sources de déperditions, par le contrôle des grains stockés.
- Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des facteurs qui contribuent à la biodétérioration du blé stocké dans la région de Sétif.
- Le troisième chapitre, on s'est intéressé dans un premier temps à l'effet de la composition biochimique des espèces de céréales sur le comportement de *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. ; dans un deuxième temps, à l'évaluation de la sensibilité de 12 variétés de blé tendre au *Sitophilus granarius* L.
- Le quatrième chapitre, portant sur le contrôle de l'espèce *Sitophilus granarius* L. à l'aide d'une protéine entomotoxique du type A1b des graines de légumineuses et d'un entomopathogène *Pseudomonas syringae*.

Chapitre I. Revue bibliographique

1.1. Altération des grains de céréales stockées

La conservation des céréales est un problème à multiples interrelations liées à la complexité même de l'écosystème des grains entreposés. En fait, la masse de grains est une entité comprenant deux types d'organismes vivants : la céréale elle-même, bien qu'en état de vie ralentie et un ensemble d'autres organismes dont la présence est soit obligatoire (micro-organismes) soit facultative ou fortuite (insectes, acariens, petits vertébrés) (Sigaut, 1980).

Les exigences physiques de la flore et de la faune, associées au stock sont spécifiques et correspondent le plus souvent à la longue adaptation aux conditions du milieu. Elles sont engendrées par l'accumulation des masses des denrées alimentaires depuis que les sociétés humaines se sont structurées (Kamel, 1980).

Ce même auteur note que dans le domaine de l'écologie de stockage, tous les facteurs varient dans le temps et les interactions entre les différents constituants de l'écosystème de même que les causes d'altérations ne sont pas faciles à isoler. La prédominance de l'une des causes ou de l'autre dépendra essentiellement de l'état sanitaire, physique et chimique à la récolte et des conditions de stockage.

Les céréales stockées constituent un biotope en équilibre instable qui peut être détruit par l'action de tout agent physique ou biotique. L'écologie du stockage consiste à étudier les interactions entre les divers organismes biotiques et leur milieu (figure.1).

Selon Cangardel in : Sigaut (1980), les agressions peuvent être d'ordre :

- Enzymatique (Hydrolase).
- Chimique ou biochimique (dénaturation des protéines et des acides nucléiques, destruction des vitamines et les oxydations non enzymatique
- Mécaniques (fissures).
- Biotique (consommation alimentaire, contamination, accumulation de gaz carbonique et de chaleur par les insectes ou les micro-organismes).
- Abiotique (atmosphère inter-granulaire, température, humidité relative).

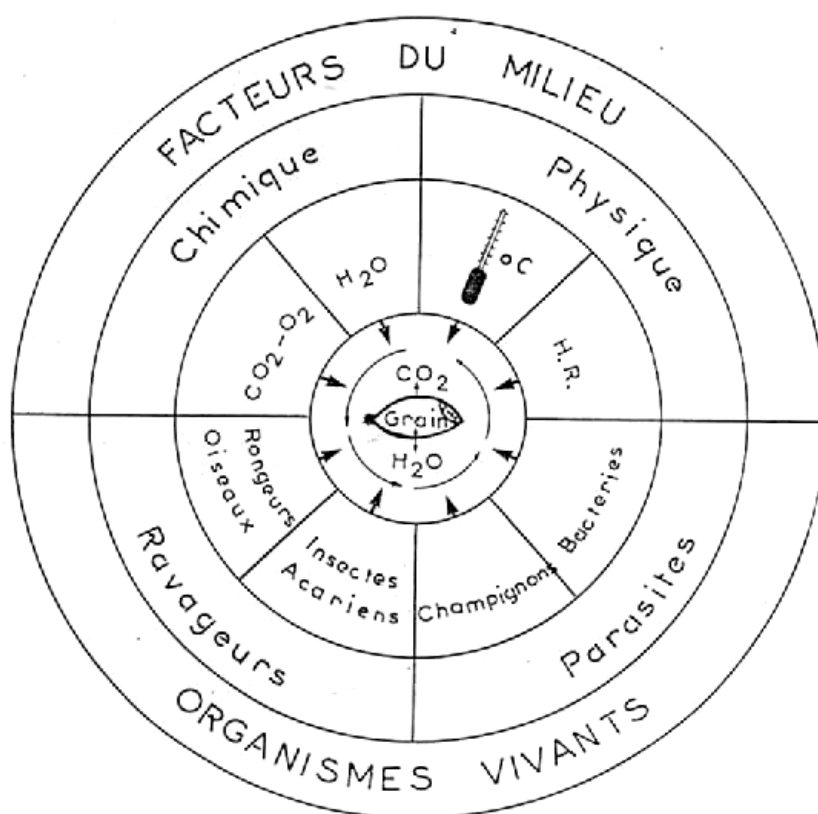


Figure 1. Ecosystème du grain stocké Cangardel in : Sigaut (1980)

Il convient, pour des raisons de sécurité du consommateur et des raisons économiques, d'éviter pendant la période de stockage, toute altération des grains susceptible de compromettre ses qualités. Sachant que le grain ne peut se conserver indéfiniment sans perdre ses qualités et la préservation de toutes ses qualités sont ni éternelles ni gratuites (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002).

De plus, Multon (1982) note que les pertes en générale sont de nature variable et complexe et les préjudices causés se traduisent par :

- Une perte pondérale (les grains sont parfois réduits en poussière).
- Une contamination des grains par les excréments, les micro-organismes et les cadavres d'insectes.
- Un échauffement et une humidification du grain favorisant ainsi l'installation du champignon.

Ainsi, Kossou et Aho (1993) signalent que pour une conservation de longue durée, il est donc nécessaire de respecter un certain nombre de règles constituant des préconisations minimales et de disposer de moyens de contrôle ou de surveillance pour les conditions suivantes:

- La teneur en eau du grain avant l'entreposage.
- La température du grain et du local d'entreposage.
- La présence d'insectes à un niveau de densité inférieur au seuil de détection dans un échantillon normalisé.
- Il est conseillé de contrôler la teneur en résidus de pesticides.
- Il est conseillé aussi de contrôler la charge microbienne à l'entrée de l'entrepôt et, si possible, le type de micromycète présent.

Les bonnes pratiques de conservation, consistent à maintenir le plus longtemps possible la qualité des céréales, en agissant sur les divers mécanismes d'altération des grains entreposés. Ces mécanismes d'altération de grains pouvant intervenir pendant le stockage et la conservation dépendent de l'activité métabolique du grain (Kossou et Aho, 1993).

Le déclenchement d'un mécanisme particulier nécessite la présence simultanée d'une part, les facteurs d'altération qui conditionnent le développement des micro-organismes et des insectes qui sont toujours présents en plus ou moins grandes quantités sur le grain ou sur les lieux d'entreposage et d'autre part, les causes d'altération (Cangardel in Sigaut, 1980).

1.1.1. Facteurs d'altération

Les principaux facteurs qui conditionnent l'ampleur de ces diverses altérations sont : Le temps, l'humidité du grain, la température du grain et l'oxygène.

▪ Temps

C'est le facteur prépondérant puisqu'il conditionne la durée des dégradations. Plus un grain humide attend d'être traité, plus il se dégrade, il convient donc d'agir le plus rapidement possible après la récolte pour mettre ce grain dans de bonnes conditions de stockage (Anonyme, 1996).

▪ Température

Les grains sont mauvais conducteurs thermiques. Ainsi la chaleur engendrée dans la masse de grain en stock est difficilement évacuée. Les élévations de température résultantes sont parfois fortes et localisées. Les gradients de températures ainsi créés engendrent un double transfert de chaleur et de vapeur d'eau de la plus chaude vers les zones froides (Gough *et al.*, 1987).

La détérioration touche principalement les processus biochimiques et enzymatiques. Les insectes exigent pour se développer une fourchette de température se situant généralement entre 12 et 40 °C. Au-dessous du seuil de température, ils cessent toute activité et entrent en léthargie (Fleurat-Lessard, 1989).

Cependant, il convient d'ajouter que plus la température est élevée, plus les réactions d'altérations sont rapides et leur évolution dépend du milieu. La composition de l'atmosphère inter-granulaire intervient sur la nature du métabolisme (aérobie ou anaérobie) et au niveau des réactions dont la vitesse est liée à l'état du stock. Les changements enregistrés dans le grain ou produit dérivé sont liés aux causes d'altération qui sont de types variés (Kossou et Aho, 1993).

▪ Humidité

Le grain contient toujours un certain pourcentage d'eau qui varie considérablement avec la date, les techniques de récolte et les conditions climatiques à l'approche de la maturité. La teneur en eau est relativement faible dans les pays tropicaux et subtropicaux (zone sèche) et élevée dans les pays tempérés, continentaux ou tropicaux humides où la température varie également dans les limites assez larges (variation saisonnière) (Farjan, 1983).

De plus, Cahagnier et Fleurat-Lessard (2002) mentionnent que le grain ne peut se conserver longtemps que si son humidité est basse et située au-dessous du seuil limite d'apparition d'eau libre dite "solvante" qui favorise le développement des moisissures. Cette limite et activité de l'eau, est aussi appelée "teneur en eau de sauvegarde". Pour les céréales, la limite d'activité de l'eau ou seuil de sauvegarde, est à 0.70 (soit 70% d'humidité relative à l'équilibre). Cela correspond à une teneur en eau des céréales de l'ordre de 14%.

Comme dans la pratique courante du stockage, on se place rarement dans ces conditions, lorsque le seuil de sauvegarde de teneur en eau est dépassé, la température doit être la plus basse possible pour pouvoir assurer une conservation de plusieurs mois sans risque important. L'état d'équilibre qui s'établit entre l'humidité du grain (teneur en eau) et l'hygrométrie de l'air ambiant détermine les mécanismes physiologiques et physico-chimiques responsables des altérations (Mackay, 1976; Brunken *et al.*, 1977).

- **Oxygène**

Les effets de son absence ont conduit à certaines applications en matière de stockage et de conservation des céréales. Lorsque l'humidité relative de l'atmosphère interne est excessive l'évolution des insectes et des moisissures est arrêtée ; par contre celles des organismes ou des réactions anaérobies pourrait se poursuivre (Bottomley *et al.*, 1950).

En aérobiose, les substances de réserves constituées essentiellement de lipides et d'amidons sont détruites et consommés par les réactions d'oxygénation. Il en résulte une perte de matière sèche du stock qui se traduit pratiquement par une baisse de valeur alimentaire. L'eau produite est absorbée par les grains dont elle augmente l'humidité; ce qui accélère les réactions. Une partie de l'énergie dégagée contribue à augmenter la température des grains, entraînant l'échauffement et l'accélération des réactions (Bottomley *et al.*, 1950).

Ces auteurs notent que c'est sous la forme chimique que l'énergie est utilisée dans les mécanismes biologiques conduisant à la prolifération des micro-organismes, des insectes, des rongeurs et à la germination des grains. Les métabolismes débouchent également sur la production des substances toxiques (toxines de moisissures), et de déchets tels que les déjections d'insectes et les petits vertébrés. La masse du grain ou de produits stockés devient impropre à la consommation.

En anaérobiose, certaines bactéries sont capables de dégrader les réserves et d'en extraire l'énergie nécessaire à leur propre développement, à travers la réaction de fermentation. L'apport thermique de la fermentation est plus faible que celui de la respiration. Les produits obtenus sont très variés. Ils dépendent du type de bactérie; on peut noter l'acide lactique, l'acide butyrique et l'alcool (Bottomley *et al.*, 1950).

Ainsi, les altérations des propriétés technologiques des produits demeurent les conséquences les plus courantes des mauvaises conditions de conservation en milieu étanche. Des phénomènes d'oxydation extrêmement rapides et dangereux peuvent se produire au cours du stockage ou lors des manutentions post-récolte des produits tels que les explosions de poussière, l'auto- ignition des grains, l'inflammation de dépôt de poussière et diverses sortes d'incendies (Bottomley *et al.*, 1950).

Selon Burges et Burrell in : Anonyme (2003), les effets couplés de ces différents facteurs (température, humidité et oxygène), déterminent les zones à risques d'altération et les zones de bonne conservation. Ceci est bien illustré au niveau de la figure 2. On a toujours intérêt à maintenir la température de préférence en dessous de 18°C, quand la teneur en eau du grain est aux alentours de 15%. Le diagramme montre aussi la grande instabilité du grain humide qui s'abîme dès que la température excède 10°C. On admet qu'au-delà de 17% de teneur en eau et plus de 20°C, le grain ne pourra se conserver seul sans intervention.

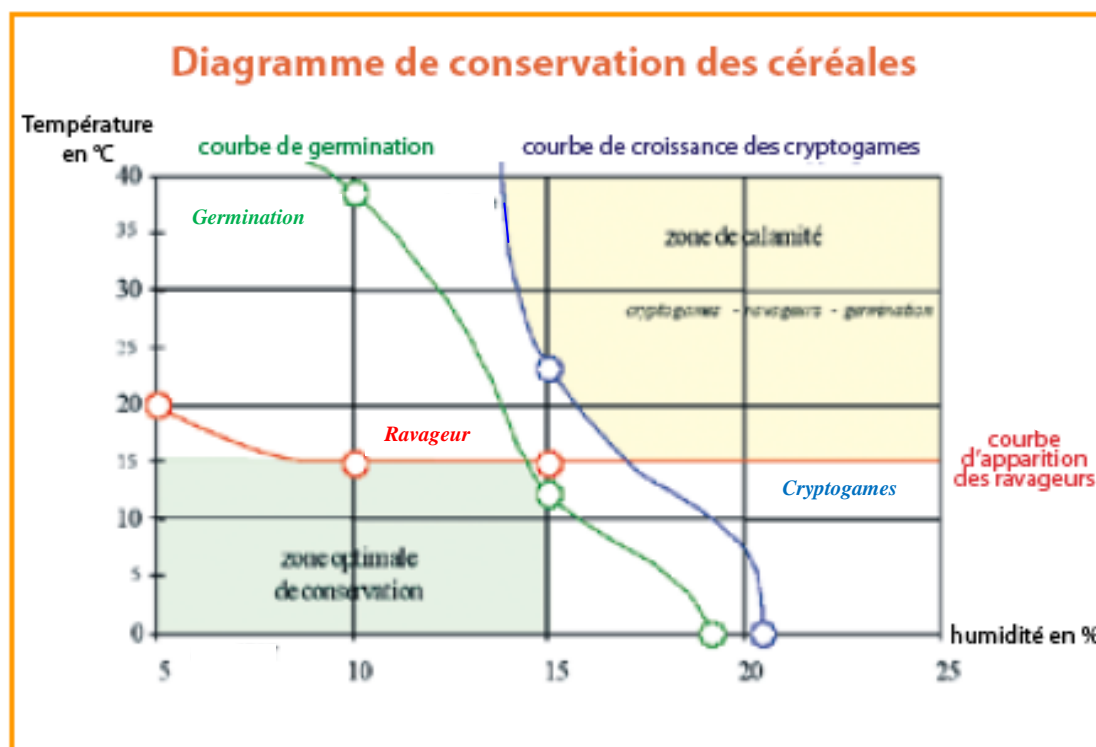


Figure 2. Diagramme de conservation des céréales (Burges et Burrell in : Anonyme, 2003)

1.1.2. Causes d'altération

Ces altérations peuvent avoir des origines très diverses :

- **Chimiques ou biochimiques**

Lorsque le grain est soumis à des températures trop élevées (échauffement naturel ou températures trop fortes lors du séchage), il peut se produire une dégradation de la structure de l'amidon et des protéines. Des changements au niveau des propriétés fonctionnelles des protéines des produits de mouture stockés (farine), des caractères rhéologiques et des activités enzymatiques (Amas *et al.*, 1986). De plus, Khare (1990) et Jood *et al.* (1993), ont observé une dénaturation et une diminution de la solubilité des protéines.

Par ailleurs des pertes en vitamines peuvent survenir au cours du stockage, mais elles sont surtout perceptibles dans les produits de transformation des grains. Enfin, une modification d'aspect, allant du brunissement, voire dans des cas extrêmes, noircissement du grain (Anonyme, 1996).

- **Enzymatiques**

Dans des conditions optimales de température et d'humidité, les enzymes présents dans les grains ou sécrétés par la microflore entrent en activité et favorisent la dégradation de la structure de l'amidon et le rancissement des lipides (Anonyme, 1996).

Pour les glucides, l'attaque est opérée par l'alfa amylase et la bêta amylase au cours du stockage, débouchant sur la dextrine et le maltose. Il en résulte des variations du poids chez les produits conservés. Les protéines, sous l'action des protéases, donnent naissance à des polypeptides et à des acides aminés. Ces réactions ne sont effectivement observées qu'en phase avancée de détérioration. Des changements de couleur, d'odeur (rancissement) peuvent s'observer chez les grains riches en lipides en raison de l'action des lipides. Il en résulte la production d'acides gras (Finar, 1975).

- **Biophysiques**

Une pullulation d'insectes donne naissance à une production d'anhydride carbonique (CO₂) et de chaleur, cette dernière entraîne un transfère d'air par diffusion et par convection produisant donc un déplacement de l'eau. Cette augmentation de la teneur en eau peut être

assez élevée pour causer l'agrégation des grains, le démarrage de la germination, le développement de moisissures et de pourriture bactérienne dans les cas extrêmes (Banks, 1981 ; Khare, 1990). Ces derniers, ont montré qu'une infestation qui produit 1 % de gaz carbonique dans l'air interstitiel en 24 heures, ne provoque pas d'augmentation appréciable de la température.

▪ Microbiologiques

Les moisissures sont toujours présentes sur les grains. Elles se développent au champ et au cours du stockage (Anonyme, 1996). Du fait de leur siccité, la flore dangereuse ou susceptible d'altérer la qualité des céréales est essentiellement constituée par des moisissures adaptées à des taux d'hydratation assez bas (15 à 16 % de teneur en eau) et appelée communément flore de stockage (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002).

Ils signalent que depuis le moment de leur "initiation" au sein de l'épi jusqu'au passage au mouliné, les grains de céréales sont soumis à des contaminations par des micro-organismes (bactéries, levures et moisissures). Si les conditions climatiques dans la période précédant la récolte influant considérablement sur la nature et le nombre de micro-organismes portés par le grain ; Il est clair que les opérations de battage et, éventuellement, le séchage sont à l'origine de mélange et de contamination secondaire qui confèrent au grain stocké, une microflore sensiblement différente de celle du grain au champ.

Les principaux représentants de cette microflore de stockage sont essentiellement des espèces des genres *Aspergillus* et *Penicillium*, accompagnées par des espèces secondaires de Mucorales ou des genres *Byssoclamys*, *Scopulariopsis*, *Wallemia*, *Botrytis*, *Cephalosporium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Epicococum*, *Giberella*, *Mucur*, *Myrotehecium*, *Neurospora*, *Rhizopus*, *Sporotrichum*, *Stachysbotris* et *Trichothecium* (Creppy, 1994 et Kozakiewicz, 1994) ; Toujours très abondantes dans les recoins des silos et des entrepôts. Ces espèces très sporulantes sont très souvent à l'origine de contaminations secondaires lors de manutentions et de la transformation des grains. Ces moisissures de stockage sont les seules à pouvoir se développer sur des grains à 15-16 % de teneur en eau, sont appelées, de ce fait, xérotolérantes.

Plusieurs auteurs, Cahagnier et Fleurat-Lessard (2002) ; Kossou et Aho (1993), soulignent que les moisissures sont une cause directe de l'altération des grains. Des relations de causes à effet entre la prolifération des moisissures et certains types de dégradation des

grains sont bien établies. Ainsi, le développement d'*Aspergillus* et de *Penicillium* sur les grains s'accompagne d'une diminution de la faculté germinative et des odeurs de moisi qui apparaissent dans le grain ou les farines. Ainsi, les grains cassés, fissurés ou morts, perdent leurs défenses naturelles et sont plus vulnérables aux facteurs d'altérations et, en particulier, aux micro-organismes.

Il est bien connu par ailleurs que l'acidité extractible de blés stockés augmente en même temps que le nombre de germes fongiques et il a été démontré un rôle prépondérant et quasi-exclusif des moisissures dans ce processus d'acidification. De plus, toute prolifération de micro-organismes se fait au détriment de la matière sèche du grain qui est utilisée pour le métabolisme énergétique des moisissures en particulier, l'amidon de l'albumen et les lipides du germe (Rehman, 2006).

Le métabolisme des micro-organismes en conditions favorables de multiplication intense, provoque une perte de matière sèche du grain et, ce qui est plus grave encore, il génère de la chaleur et de la vapeur d'eau, ce qui a pour effet d'entretenir des conditions très favorables au développement d'un processus d'échauffement spontané et masque souvent la perte de matière sèche par l'apport d'eau en compensation (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002).

Dans ces conditions, certains champignons peuvent synthétiser des molécules extrêmement toxiques pour l'homme et les animaux, pouvant se déposer en résidus dans les grains stockés, appelées mycotoxines (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2001; Abramson *et al.*, 2005).

Selon Gwinner *et al.* (1996), les champignons formant la toxine qu'on trouve dans les denrées stockées peuvent se diviser en deux groupes. Ceux qui se manifestent déjà dans le champ et produisent des toxines (*Alternaria* et *Fusarium*) et, ceux qui deviennent seulement actifs dans le stockage (*Aspergillus* et *Penicillium*).

▪ **Biologiques**

Il s'agit du monde animal ; La faune déprédatrice des céréales entreposées est composée de différentes espèces d'acariens (tyroglyphes, tyrophages, etc...), des insectes rampants (charançons, sylvains, etc...) ou volants (teignes, alucites, etc.), des oiseaux (moineaux, tourterelles, étourneaux, etc.) et de rongeurs (rats, souris, etc...) (Valoon, 1984).

Ce sont cependant les insectes et les acariens qui vivent en proportion considérable dans la masse des grains.

- *Les insectes*

L'importance des insectes des stocks a été longtemps sous estimée. Les dégâts insidieux sont détectés seulement au moment de la vente ou de la consommation. Les difficultés qu'engendre l'infestation des insectes se situent surtout au niveau de la réglementation en vigueur dans les pays producteurs de grains ou de produits dérivés (Schiffers *et al.*, 1990).

De tous les ravageurs, ce sont les attaques d'insectes qui sont la cause d'importantes pertes économiques au niveau du stockage des céréales. Ces pertes peuvent être soit une réduction ou une destruction du pouvoir germinatif, une perte de substance nutritive, une contamination des grains, soit par les odeurs provenant des substances sécrétées par les insectes, soit par les souillures dues aux matières fécales ou aux insectes morts et aux fragments d'insectes (Godon et Loisel, 1984).

La vitesse de multiplication des insectes, comme dans le cas des moisissures, dépend étroitement de deux facteurs, la température du grain et sa teneur en eau. L'insecte ne se multiplie pas, au moins de façon perceptible, au-dessous de 12°C. Lorsque la température de seuil est dépassée, sa vitesse de multiplication double lorsque la température augmente de 5 à 7 degrés. Lorsque la teneur en eau augmente de 2 points, la vitesse de développement des insectes augmente de 50% et les femelles ont une descendance beaucoup plus nombreuse dans le grain humide que dans le grain sec.

Les principales conséquences de l'attaque des insectes sur la qualité des céréales stockées sont secondaires par rapport à la seule présence d'insectes vivants qui constitue un motif de refus de la marchandise et une réfaction sur le prix, correspondant au moins au coût d'une fumigation, indispensable pour ramener le lot de grain à la norme commerciale requise (non présence d'insectes vivants) (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002).

Ces auteurs constatent que sur le plan qualitatif, une attaque importante d'insectes (plus de 100 insectes par Kg de grain par exemple) aura les conséquences suivantes :

- Une légère diminution de la masse spécifique (masse à l'hectolitre).
- Une augmentation de la teneur en impuretés légères.
- Une diminution du taux de gluten dans les farines fabriquées à partir de blé infesté, celui-ci devenant cassant et se désagréant plus facilement, avec une tolérance au pétrissage plus faible de la pâte.
- Une élévation de l'acidité grasse sera constatée, mais l'intensité de la libération d'acides gras sera fonction de l'espèce infestante.
- Le développement d'odeurs désagréables peut être perçu si l'espèce appartient aux genres *Tribolium* ou *Rhyzopertha*.
- La qualité nutritionnelle peut baisser légèrement ou on a observé une diminution du coefficient d'efficacité protéique.
- La présence de microparticules, provenant soit de l'activité alimentaire des insectes, soit directement de leur développement, peut être à l'origine d'allergie pour les personnels qui manipulent la céréale.
- Les insectes excrètent de l'acide urique qui n'est pas un constituant normal du grain. Celui-ci nous renseigne sur la probabilité de la contamination du blé qui a servi à fabriquer la farine.
- La contamination par les insectes est un élément favorisant la dissémination des micro-organismes et les contaminations secondaires par les moisissures de stockage.
- Le tube digestif des insectes est susceptible d'héberger des germes de bactéries qui ne sont pas tout inoffensifs pour la santé du consommateur.

Il est donc évident qu'un lot de céréales contaminé par des micro-organismes ou infesté par les insectes peut présenter une qualité amoindrie et dont tous les aspects : hygiénique, sanitaire, nutritionnel et technologiques sont atteints, même faiblement (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002).

- ***Les acariens***

Les acariens ne causent pas de dégâts à incidence économique grave, néanmoins, leur présence est surtout révélatrice d'un mauvais état du grain, trop humide. Ainsi, leur pullulation aggrave l'état sanitaire des céréales et diminue donc leur qualité alimentaire (Fleurat-Lessard, 1988).

Les acariens sont des arthropodes et c'est les plus petits des ravageurs des produits entreposés. Ils passent néanmoins inaperçus en raison de leurs dimensions microscopiques (Mills, 1990) et se présentent également sous forme d'agrégats, qui les font ressembler à une poussière vivante (Fleurat-Lessard, 1978).

Résistants au froid, les acariens étant principalement attirés par les moisissures dont ils se nourrissent, ils ne représentent qu'un risque parallèle à celui des moisissures et que l'on peut associer à une teneur en eau plus élevée que la normale commerciale, en générale supérieure à 15 % dans les céréales (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002).

Les acariens sont particulièrement attirés par les grains brisés, les semences de mauvaises herbes, les impuretés (Mills, 1990) et les substrats riches en lipides, notamment, en ce qui concerne les céréales, le germe des grains (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002). Ils ajoutent que ces acariens que l'on rencontre dans les denrées entreposées se subdivisent en deux catégories, selon le régime alimentaire:

- Les saprophytes, se nourrissent du germe du grain humide, de moisissures et de déchets. Les principales espèces d'acariens sont: *Acarus siro* (L.) et *Tyrophagus putrescentiae* (Sch.).
- Les prédateurs ou parasites, attaquent les précédents et s'en prennent aux œufs, larves et adultes d'insectes. Parmi ces acariens, nous citons, les Cheyletus, les pyemotides et les gamasides.

Ainsi, les acariens et leurs cadavres sont des allergènes reconnus. De plus, ils transportent et disséminent les espèces de moisissures qu'ils consomment.

- ***Les oiseaux et les rongeurs***

Les oiseaux et les rongeurs commencent leurs dégâts aux champs et les poursuivent au niveau des stocks. Ils s'infiltrent accidentellement dans les lieux de stockage et pourraient engendrer des dégâts importants. Les rongeurs consomment une grande quantité de grains en commençant par l'embryon ; ils souillent une masse importante de denrées avec les excréments, leurs urines et leurs poils (Kossou et Aho, 1993).

Ils mentionnent que sur le plan santé humaine, les rongeurs sont des vecteurs de parasites, réservoirs et propagateurs de maladie. Parmi les dégâts indirects, on peut noter les

incendies et les pannes provenant des attaques opérées sur les éléments de circuits électriques et les accidents qui dérivent des dommages causés aux équipements de manutention (Favreau, 1998).

1.2. Comportement des espèces de céréales aux ravageurs des stocks

Les déprédateurs considérés comme les plus nuisibles par l'homme sont ceux qui s'attaquent à ses ressources alimentaires. Depuis que l'homme a domestiqué les espèces végétales les plus intéressantes pour son alimentation, les insectes qui utilisent les mêmes ressources sont apparus comme ses vrais compétiteurs.

De nombreux déprédateurs, compte tenu des conditions d'humidité et de température favorables, attaquent rapidement ces céréales au champ ou en stock (Delobel et Tran, 1993). Ces ennemis des denrées alimentaires appartiennent à de nombreuses espèces tant d'insectes que d'acariens.

1.2.1. Les insectes ravageurs des denrées

Les insectes rencontrés sur les stocks des denrées alimentaires sont nombreux. Certains attaquent les graines entières, d'autres des graines cassées, aussi bien que de la farine. La plupart de ces déprédateurs vivent sur les denrées aussi bien à l'état adulte que larvaire (Steffan, 1978 ; Baker et Loschiavo, 1987 ; Paulian, 1988 ; Delobel et Tran, 1993).

▪ Les coléoptères des denrées

Les coléoptères constituent l'un des ordres comportant de nombreuses espèces nuisibles aux denrées stockées, notamment les céréales. Certains ne commettent que des dégâts modestes, par contre d'autres constituent les vrais ennemis des stocks alimentaires (Steffan, 1978 ; Paulian, 1988 ; Delobel et Tran, 1993). Les plus fréquents sont :

Les Bostrichychidae (*Rhyzopertha dominica* F.), les Dermestidae (*Trogoderma granarium* E.), les Trogositidae (*Tenebroides mauritanicus* L.), les Tenebrionidae (*Tribolium castaneum* H.), les Silvanidae (*Oryzaephilus surinamensis* L.) et les Cucujidae (*Cryptolestes ferrugineus* S.).

▪ Les charançons des denrées

La palme de la déprédation des céréales revient à la famille des Curculionidae avec le genre *Sitophilus*. Le tableau 1, montre que ce genre comprend de nombreuses espèces pouvant se développer sur des aliments divers (Delobel et Grenier, 1993).

Tableau 1. Différentes espèces du genre *Sitophilus* avec les aliments sur lesquels elles se développent.

Espèces	Aliments	Familles
<i>S.glandium</i> Marshall	<i>Quercus incana, Quercus dilatata</i>	Fagaceae
<i>S.granarius</i> L.	<i>Triticum, Secale, Hordeum, Avena, Zea, Oryza</i>	Poaceae
	<i>Quercus sp., Castanea sativa</i>	Fagaceae
	<i>Fagopyrum esculens</i>	Chenopodiaceae
	<i>Cicer arietinum</i>	Fabaceae
<i>S.linearis</i> Herbst	<i>Tamarindus indica</i>	Cesalpiniaceae
	<i>Arachis hypogaea</i>	Fabaceae
	<i>Phoenix dactylifera</i>	palmaceae
<i>S.oryzae</i> L.	<i>Triticum, Zea, Oryzae, Hordeum, Sorghum</i>	Poaceae
	<i>bicolor, Coix lacrimajovi, Pennisetum glaucum</i>	
	<i>Lens esculenta, Vigna angularis, Cicer arietinum,</i>	Fabaceae
	<i>Pisum sativum</i>	
	<i>Ceratonia siliqua</i>	Cesalpiniaceae
	<i>Castanea sativa, Quercus sp.</i>	Fagaceae
	<i>Fagopyrum esculens</i>	Chenopodiaceae
<i>S.rugicollis</i> Casey	<i>Shorea robusta, Dipterocarpus turbinatus</i>	Dipterocarpaceae
	<i>Psidium sp.</i>	Myrtaceae
<i>S.rugosus</i> Thunberg	<i>Paradaniella sp.</i>	Fabaceae
<i>S.sculpturatus</i> Gyll.	<i>Eugenia jambolana</i>	Myrtaceae
<i>S.vateriae</i> Marshall	<i>Vateria indica</i>	Dipterocarpaceae
<i>S.zeamais</i> Motsch.	<i>Triticum, Zea, Oryzae, Hordeum, Sorghum</i>	Poaceae
	<i>bicolor, Pennisetum glaucum</i>	
	<i>Garcinia kola</i>	Clusiaceae
	<i>Castanea sativa, Quercus sp.</i>	Fagaceae
	<i>Nelumbo nucifera</i>	Nympheaceae

Les espèces les plus connues et familières à l'homme, car vivant sur ces stocks de denrées alimentaires sont *S.granarius* L, *S.zeamais* M. et *S.oryzae* L. Elles dégradent les grains aussi bien à l'état imaginal que larvaire. Les charançons des céréales constituent les pionniers dans l'attaque du contenu d'un silo car ils s'en prennent de préférence aux grains entiers (Grenier *et al.*, 1986).

En plus des céréales, *S.zeamais* a été signalé sur des glands de chêne (Mills, 1989). *S.oryzae* s'est révélée encore plus polyphage de sorte qu'on le rencontre non seulement sur des céréales diverses, mais aussi sur de nombreux aliments, y compris les graines de légumineuses, réputées pour leur toxicité à cause de la grande diversité des métabolites secondaires qu'elles synthétisent (Delobel et Grenier, 1993).

1.2.2. Relations Plantes-insectes

Les relations plantes insectes font l'objet d'importantes études aux possibles retombées économiques. Si certains insectes sont particulièrement utiles aux plantes en assurant, par exemple, la pollinisation nécessaire à la reproduction du végétal, nombreux sont les nuisibles qui s'alimentent de la plante, provoquant parfois des dégâts irréparables. Les végétaux subissent la pression des insectes phytophages depuis l'apparition de ceux-ci (il y a plus de 145 millions d'années). Bien qu'immobiles, de temps de génération souvent long et de faible taux de recombinaison, les végétaux constituent le taxon le plus important en terme de biomasse sur terre. Ils possèdent un système efficace de résistance, basé sur des caractères physiques, chimiques et développementaux, vis-à-vis de ces ravageurs. La résistance des plantes face aux insectes définit la capacité de celles-ci à éviter ou réduire les dommages causés par ces derniers (Kogan, 1975). Elle est le plus souvent évaluée de façon relative et au niveau intra spécifique puisque dépend de la comparaison avec une plante sensible plus sévèrement touchée dans les mêmes conditions et constitue une règle générale. Elle varie de plus dans le temps, l'espace et selon les conditions environnementales. Trois catégories de résistance ont été définies (Painter, 1951) :

- La non préférence ou antixénose définit le type de résistance induite par le rejet de la plante comme hôte de l'insecte.
- L'antibiose indique que l'insecte est touché dans sa physiologie par la plante.
- La tolérance est la capacité d'une plante à supporter ou se rétablir des dégâts causés par l'herbivore.

Les protections mécaniques des plantes sont diverses et nous ne nous étendrons pas sur cette composante. Des épines ou poils peuvent constituer une barrière efficace contre certains herbivores en empêchant l'installation ou l'accès à l'aliment de l'insecte. Les trichomes crochus de *Phaseolus vulgaris* peuvent, par exemple, tuer les nymphes d'*Empoasca fabae* en les empalant (Pillemer et Tingey, 1978). Les cires de surfaces qui protègent les feuilles de la dessiccation et des maladies sont également répulsives ou gênent l'adhésion de certains insectes. Toutefois, elles stimulent parfois l'oviposition ou l'alimentation. L'épaisseur des tissus participe également à la résistance de certaines plantes. L'oviposition et l'alimentation des larves de *Chalcodermus aenus* sont en effet limitées par l'épaisseur de la paroi des gousses de certaines variétés de *Vigna unguiculata* (Fery et Cuthbert, 1979).

Les composés chimiques produits par les plantes sont probablement le facteur le plus important contrôlant le comportement des insectes dans la nature et l'intérêt porté aux défenses chimiques des plantes n'ont cessés de croître depuis le milieu des années 60 (Schultz, 1988).

De plus, il signale que ces composés de structures et natures variées peuvent avoir des effets répulsifs (lors de l'orientation olfactive), antiappétants (lors de l'essai d'alimentation) ou toxiques pour les insectes et d'autres herbivores. Certains composés ont un rôle indirect dans la défense, attirant des parasitoïdes ou des prédateurs du ravageur. Les défenses chimiques peuvent être produites constitutivement ou en réponse à une attaque, localement ou dans la plante.

Ces dernières années, de nombreuses recherches ont permis de connaître les principes majeurs de défenses des plantes vis-à-vis de leurs déprédateurs et d'élucider les modes d'actions de certains d'entre eux. Cette défense suit une dynamique constante afin de permettre à la plante de s'adapter au nouvel environnement imposé par ces ennemis qui, eux aussi, ne cessent de diversifier leurs moyens d'attaque. On parle de nos jours de relation plantes insectes et de co-évolution plantes insectes (Brattsten, 1991).

Ce même auteur, mentionne que dans les relations plantes insectes, chaque membre est sous la pression constante de l'autre. L'insecte se sert de la plante hôte pour sa nutrition donc pour sa croissance et sa reproduction. Une exploitation massive de la plante hôte entraînerait à la longue la disparition des individus, voire celle de l'espèce. La plante, pour sa survie vis-à-vis des insectes, au fil de l'évolution est amenée à imaginer des moyens de résistance,

empêchant son utilisation comme aliment par des insectes qui lui sont nuisibles. Cette défense comprend des moyens physiques tout comme l'élaboration de substances chimiques répulsives ou toxiques. Les insectes à leur tour, mettent au point des systèmes leur permettant de contourner les défenses mises en place par la plante.

La résistance d'une plante est définie comme la capacité de cette plante à éviter, tolérer ou se rétablir de l'attaque des insectes qui causent des dommages à d'autres plantes dans les mêmes conditions environnementales. Ainsi, définie, la résistance d'une plante à l'attaque des insectes inclut les barrières physiques dressées par celles-ci contre ses déprédateurs aussi bien que les composés chimiques antiappétants ou toxiques qu'elle synthétise (Kogan, 1975).

Certaines de ses substances sont produites naturellement par les plantes, d'autres sont une réponse à une attaque massive des déprédateurs, d'autres encore sont produites naturellement en faible quantité mais voient leur taux augmenter au cas d'attaque. Cette augmentation peut être locale ou générale. Les effets de ces composés peuvent se traduire par une forte mortalité, un développement anormal ou une infécondité (Kogan, 1975).

Ainsi, les différents types de molécules de défense des plantes, protéiques ou non, sont présentés de façon non exhaustive dans cette partie bibliographique. Leurs activités insecticides sont mises en avant bien que d'autres activités, de défense ou non, puissent également en être mentionnées. Ces composés à effets insecticides produits par les plantes sont nombreux et classés en fonction de leur structure. Les plus connus sont les lectines, les inhibiteurs d'enzymes, les composés cyanogènes, les saponines, les alcaloïdes et les acides aminés non protéiques.

▪ **Les Lectines**

Les lectines ou phytohémagglutinines sont pour la plupart des glycoprotéines et des lipoprotéines mais certaines sont purement des protéines (Jaffe et Seidl, 1992). Elles sont largement présentes dans le monde végétal. La source la plus importante est constituée par les Euphorbiacées et les légumineuses (Toms et Western, 1971).

De nombreuses lectines possèdent une activité insecticide lorsque fournies dans l'alimentation de divers coléoptères. Déjà plusieurs auteurs montrèrent que les lectines des

graines de haricot commun *Phaseolus vulgaris* L. présentent une activité entomotoxique pour la bruche du nièbé *Callosobruchus maculatus* F (Janzen *et al.*, 1976).

Le rôle biologique des lectines est encore sujet de controverse. Une action dans la nodulation des légumineuses a été proposé (Hirsh, 1999) ainsi que dans les mécanismes de défense des plantes (Chrispeels et Raikhel, 1991 ; Peumans et Van Damme, 1995).

Le mécanisme de toxicité, provient de la fixation des lectines sur les cellules épithéliales du tube digestif de l'insecte (*Callosobruchus maculatus*), entraînant une mauvaise absorption des nutriments ingérés (Gatehouse et Boulter, 1984). De plus, certaines lectines sont très toxiques pour l'homme et le bétail. Des études menées sur souris, poulet et autres oiseaux ont montré la capacité de certaines phytohémagglutinines à se fixer sur la muqueuse intestinale, empêchant 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).

▪ Les inhibiteurs d'enzymes

Les aliments ingérés par les insectes phytophages sont constitués essentiellement de polymères de nature protéique et glucidique. On distingue majoritairement parmi ces polymères : l'amidon, la cellulose, les holo et hétéroprotéines. Il existe des composés de nature et d'origine diverses dont la présence ralentit ou annihile l'acte catalytique des enzymes (Bottino, 1993 ; Houseman et Chin, 1995).

Aussi, ces auteurs notent que ces composés sont appelés les inhibiteurs d'enzymes. Leur présence entraîne des dérèglements dans le métabolisme de l'organisme concerné. Cela peut conduire à un retard de croissance, de développement ou à la mort des individus touchés.

L'activité des inhibiteurs d'enzymes, vis-à-vis des insectes a été la plus étudiée. L'inhibiteur trypsique de *Vigna unguiculata* est classé parmi les composés qui confèrent une résistance générale vis-à-vis des coléoptères et des lépidoptères quand ils sont présents à une concentration suffisante et est de l'ordre de 0.8% contre *Callosobruchus maculatus* (Gatehouse *et al.*, 1990).

D'autres auteurs n'ont trouvés aucune corrélation entre le taux d'antitrypsine et la résistance/sensibilité pour le développement de *Callosobruchus maculatus* et ont permis de

localiser toute l'activité dans la fraction globuline (Xavier-Fhilo *et al.*, 1991) ; alors que (Gatehouse *et al.*, 1990), l'on localisée dans la fraction albumine. Ainsi, la différence entre les deux travaux est plutôt quantitative que qualitative (Zhu *et al.*, 1994).

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. Toutefois, ils sont prometteurs pour le contrôle des bruches des grains stockés comme le montrent les essais de plantes transgéniques exprimant α AI1 (Morton *et al.*, 2000). Parmi les inhibiteurs naturels des plantes, les inhibiteurs protéiques les plus étudiés sont ceux de protéases et d'amylases.

- ***Inhibiteurs de protéases***

Les protéases sont les enzymes responsables de la dégradation des protéines. Elles sont classées en 4 groupes sur la base de la nature chimique des groupements responsables de l'activité catalytique. On distingue ainsi : Les protéases à sérines, les protéases à cystéines, les protéases acides et les métalloprotéases (Norton, 1991 ; Gueguen *et al.*, 1993).

- Les inhibiteurs de protéases à sérine constituent sans aucun doute les protéases les plus étudiées et les mieux caractérisées actuellement. Une classification de ces inhibiteurs en fonction du mécanisme d'inhibition, permet de distinguer trois principaux groupes (Laskowski et Kato, 1980) dont les inhibiteurs canoniques sont les seuls présents chez les végétaux (Richardson, 1991) en se basant sur l'homologie structurale entre les séquences, sur la localisation des ponts disulfures et sur la position du site actif, a défini sept familles d'inhibiteurs de protéases à sérine. Les deux familles qui renferment le plus grand nombre de séquences connues sont les inhibiteurs de la famille Bowman-Birk et Kunitz.

- Les inhibiteurs de protéases à cystéine de plantes (phyto-cystatines présentes dans diverses mono et dicotylédones. Elles ont été purifiées à partir de nombreuses graines (Abe *et al.*, 1987 ; Pernas *et al.*, 1998), mais la présence de ces inhibiteurs de protéases a aussi été révélée dans d'autres tissus tels que les feuilles (Zhao *et al.*, 1996), les fruits (Kimura *et al.*, 1995) et le pollen (Rogers *et al.*, 1993). On distingue deux groupes de phyto-cystatines. Les premières, à domaine unique, sont majoritaires. Le deuxième type regroupe les inhibiteurs possédant plusieurs domaines, comme les multicystatines des tubercules de pomme de terre

ou des grains de tournesol (Walsh et Strickland, 1993 ; Kouzuma *et al.*, 2000). Les phytocystatines diffèrent des inhibiteurs des animaux par leur très forte activité vis-à-vis des protéases du tube digestif des insectes, les rendant particulièrement attractives en tant qu'agent de contrôle de ces ravageurs (Bode et Huber, 1992).

- Les inhibiteurs de métalloprotéases et de protéases acides sont très peu connus à ce jour. Un inhibiteur de protéase acide a été caractérisé chez la courge (Christeller *et al.*, 1998). Cette molécule circule dans le phloème mais sa cible physiologique n'est pas connue. Cet inhibiteur de protéase est capable d'inhiber une protéase synthétisée par un champignon pathogène des Cucurbitacées, suggérant un rôle possible dans la défense de la plante contre les pathogènes.

On trouve des inhibiteurs de protéases en grande quantité dans les organes de réserve comme les graines ou les tubercules et dans les fruits immatures. En plus du rôle direct de stockage, la prévalence des inhibiteurs de protéases dans les organes de réserve suggère un rôle défensif contre les herbivores et en particulier les insectes (Ryan, 1990). Ce dernier, note que beaucoup de plantes répondent à l'attaque des herbivores en activant des gènes de défense dont les produits réduisent la qualité nutritionnelle des protéines ingérées (Polyphenol oxydase) et inhibent les protéases digestives de l'insecte, ce qui peut être directement lié à une augmentation de résistance.

Ainsi, les effets de l'ingestion d'inhibiteurs de protéases sur les insectes sont très complexes. Chaque espèce d'insecte, voire chaque population d'insecte, réagit différemment à la surexpression d'inhibiteurs de protéases dans son alimentation (Girard *et al.*, 1998). Grâce à l'étude de quelques cas, il a été mis en évidence trois stratégies adaptatives :

- La détoxification de l'alimentation par dégradation de l'inhibiteur de protéase.
- L'adaptation favorable suite à un faible niveau d'expression de l'inhibiteur de protéase.
- L'induction de protéases insensibles à l'inhibiteur de protéase.

Ces résultats démontrent la rapidité de la réponse adaptative, la plasticité de la physiologie digestive des insectes, ainsi que la complexité de la régulation de tous ces gènes codant des protéases (Mazumdar Leighton et Broadway, 2001).

- Inhibiteurs d' α amylases

Les α amylases sont des enzymes très répandues dans le monde vivant, hydrolysant les polymères glucidiques comme l'amidon et le glycogène, en oligosaccharides. Elles sont des enzymes digestives principales de nombreux insectes se nourrissant exclusivement de graines durant leur vie larvaire et/ou imaginale. Les inhibiteurs d' α amylases protéiques font partie des mécanismes de défense de nombreuses plantes et sont particulièrement abondants dans les céréales (Feng *et al.*, 1996 ; Yamagata *et al.*, 1998 ; Iulek *et al.*, 2000) et les légumineuses (Giri et Kachole, 1998 ; Melo *et al.*, 1999).

En général, les inhibiteurs d' α amylase inhibent plusieurs α amylases de différents organismes mais certains sont spécifiques des insectes (Belitz et Weder, 1990). On distingue six classes d'inhibiteurs d' α amylase protéiques de plantes, selon leur structure : les lectines, les types céréales, les Kunitz, les thaumatines, les défensines et les knottines.

- Les inhibiteurs d' α amylase de type lectine sont caractérisés chez différentes variétés de *Phaseolus vulgaris* (Moreno et Chrispeels, 1989). Ces inhibiteurs sont toxiques pour divers insectes ravageur (Huesing *et al.*, 1991 ; Ishimoto et Kitamura, 1993 ; Grossi de sa *et al.*, 1997). Des pois transgéniques exprimant α AI1 dans leurs graines ont montré une résistance totale aux bruches *Callosobruchus chinensis*, *C.maculatus* et *Bruchus pisorum* (Schroeder *et al.*, 1995) , même en condition de plein champs (Morton *et al.*, 2000). Les pois transgéniques ont peu d'effets sur la digestion de rats (Pusztai *et al.*, 1999), suggérant la possibilité d'incorporer ces inhibiteurs dans des plantes alimentaires, sans danger pour l'homme ou le bétail.

- Les inhibiteurs d' α amylase des céréales sont connus comme allergènes des farines de céréales (Garcia Casado *et al.*, 1996). L'inhibiteur du blé 0.19, nommé ainsi pour sa mobilité en gel d'électrophorèse, agirait sous forme de dimère sur les α amylases des oiseaux, bacilles, mammifères et insectes (Feng *et al.*, 1996 ; Franco *et al.*, 2000). Cette famille d'inhibiteur d' α amylase des céréales est multi génique et les différentes séquences fournissent un important champ de spécificités (Garcia Casado *et al.*, 1994).

- Les inhibiteurs d' α amylase de type Kunitz possèdent environ 180 acides aminés dont 4 cystéines et sont présents dans les céréales. Le mieux caractérisé de ces inhibiteurs est BASI (Barley Amylase Subtilisin Inhibitor) qui provient de l'orge et inhibe α amylase et subtilisine

(une protéase à sérine) (Mundy *et al.*, 1983). BASI est impliqué dans la régulation d'AMY2 endogène lors de la dégradation des sucres des graines (Garcia Olmedo *et al.*, 1992; Kadziola *et al.*, 1998). Il possède également un rôle de défense des graines vis-à-vis de protéases et amylases externes produites par divers ravageurs et pathogènes. Ces inhibiteurs bifonctionnels sont spécifiques des amylases endogènes et d'insectes mais ne semblent pas être actifs sur celles des mammifères.

- Les inhibiteurs d' α amylase de type thaumatine, une protéine au goût sucré du fruit de *Thaumatococcus danielli* (Cornelissen *et al.*, 1986). Le plus étudié de ces inhibiteurs est la zéamatine de *zea mays* (Batalia *et al.*, 1996). Cet inhibiteur n'est pas glycosylé et inhibe les α amylases de *Tribolium castaneum*, *Sitophilus zeamais* et *Rhizopertha dominica* (Schimoler O'Rourke *et al.*, 2001).

- Les défensines des plantes sont des peptides cationiques apparemment ubiquiste chez les Angiospermes et récemment identifiées chez les Gymnospermes (Fossdal *et al.*, 2003). De structure tridimensionnelle proche de celles des défensines d'insectes, elles ont été renommées défensines de plantes (Terras *et al.*, 1995). Les défensines de l'endosperme de l'orge, inhibent la synthèse protéique dans des systèmes acellulaire eucaryotes mais aussi procaryotes (Mendez *et al.*, 1996). Ce mode d'action supporte l'hypothèse de cibles intracellulaires des défensines de plante mais l'activité antimicrobienne de ces peptides reste à démontrer. Les défensines extraites des graines de *Sorghum bicolor* possèdent une forte activité inhibitrice sur les α amylases du tube digestif de sauterelles et de blattes, une faible activité inhibitrice sur les amylases d'*Aspergillus oryzae* et pas d'activité sur les amylases de l'orge, des bactéries du genre *Bacillus* (Bloch et Richardson, 1991). Une nouvelle défensine des graines de *Vigna radiata* a été caractérisée pour son activité entomotoxique et s'avère mortelle pour les larves de *Callosobruchus chinensis* à 0,2 % (Chen *et al.*, 2002).

- Les knottines caractérisés par Mac Donald et Hendrickson (1993) se retrouvent dans de nombreux peptides de différentes origines (plantes, champignons, insectes) et sont souvent des inhibiteurs de nombreuses protéines. Les knottines animales bloquent souvent des canaux ioniques tandis que les peptides végétaux agissent sur des enzymes. De nombreuses knottines de plante montrent des activités antibactériennes et antifongiques. L'activité insecticide de deux knottines a été caractérisée. Il s'agit du cyclotide kalata 1B, décrit comme antimicrobien et qui réduit la croissance des larves du lépidoptère *Helicoverpa punctigera* (Jennings *et al.*,

2001) et de l'albumine PA1b du pois, toxique pour les charançons des céréales (Delobel *et al.*, 1998). Il existe toutefois des souches de l'espèce *Sitophilus oryzae* contenant des individus résistant à ce peptide. Ce dernier possède un site de liaison spécifique de forte affinité dans la fraction microsomale obtenue à partir de charançons sensibles broyés. Ce site, protéique, est absent des charançons résistants (Gressent *et al.*, 2003).

Il reste toutefois à comprendre comment cette fixation au site de liaison induit la mort prématurée des cellules du tube digestif, observée après ingestion de PA1b par les charançons sensibles (Vaublanc, 2001).

▪ **Les composés cyanogènes**

Ce sont en générale des glyco-cyanogènes mais il existe aussi des cyanogènes lipidiques. Le premier cyanoglucoside a été isolé il y a plus de 150 ans et l'intérêt pour ces composés reste grand de par leur variété (60 composés connus), leur distribution (dans 2650 espèces de 130 familles de plantes vasculaires) et leur importance dans certaines plantes alimentaires (Con, 1980). Ce dernier, note que les glycosides cyanogènes les plus simples sont la linamarine et la lotaustraline trouvées chez de nombreuses espèces du genre lotus et chez *Phaseolus lunatus*. Les composés cyanogènes ont toujours été considérés comme impliqués dans la défense des plantes qui les produisent. On attribue aux glycosides cyanogènes le goût amer des aliments qui les contiennent.

En plus d'un rôle probable dans le métabolisme général de l'azote, ces composés jouent un rôle important de défense contre les herbivores et les pathogènes (Hruska, 1988). L'acide cyanhydrique, amer, est en effet un anti-appétant efficace contre divers insectes (Woodhead et Chapman, 1986). Il existe une corrélation entre l'amertume du manioc (*Manihot esculenta*) et la teneur en glycosides cyanogènes (Hugh-Davis, 1991). Ajoutés à l'alimentation de *Callosobruchus maculatus*, les lipides cyanogènes se montrent toxiques à une concentration de 1% pour les larves. Certains se montrent déjà létaux à une concentration de 0.1% (Bell, 1987).

▪ **Les saponines**

Ces composés tensioactifs très répandus chez les végétaux, sont des glucosides terpéniques ou stéroïdaux. L'aglycone, nommé sapogénine est un triterpène ou un stérol,

définissant ainsi deux groupes de saponines. Les saponines triterpènes sont les plus nombreux et sont essentiellement présentes chez les Dicotylédones ; les saponines stéroïdes sont surtout représentées chez les Monocotylédones. Ce sont des composés de structures complexes produits naturellement par les plantes mais aussi en plus faible quantité par des animaux marins (Fenwick *et al.*, 1991).

Le rôle exact des saponines dans les plantes qui les produisent reste encore obscur. Il s'avère que certaines saponines présentent une toxicité vis-à-vis des champignons et d'autres microorganismes. Chez les insectes, leur toxicité est due à leur liaison avec les stérols libres du tube digestif, réduisant ainsi le taux d'assimilation de ces stérols dans l'hémolymphe ce qui interfère avec le processus de mue (Rahbé *et al.*, 1988). Les saponines de soja sont toxiques vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Su *et al.*, 1972) ; de la luzerne contre *Tribolium castaneum* et celles du pois chiche et de la lentille sont actives vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* (Fenwick *et al.*, 1991).

▪ Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des bases organiques, présents dans toutes les classes d'organismes vivants mais provenant pour la plupart de plantes supérieures. Ils sont communs chez les Angiospermes, dont 20% en sont riches, et rares chez les végétaux inférieurs, avec toutefois des exceptions comme l'ergométrine de *Claviceps* (Woolley, 2001). Ils ont été trouvés au départ à partir d'extraits de végétaux supérieurs (Bell, 1978) mais par la suite chez les animaux, les insectes, les bactéries, et les champignons (Pettersson *et al.*, 1991).

En plus d'un rôle probable dans le métabolisme de l'azote et son stockage, les alcaloïdes présentent diverses activités biologiques, témoins de leur rôle dans la protection des végétaux. Certains alcaloïdes présentent des activités antimicrobiennes comme les calystégines, antivirales des feuilles de *Morus* (Moraceae) et la berbérine, antibactériennes de l'écorce des Berberidaceae. Enfin, dans les relations plantes insectes, les alcaloïdes ont principalement un rôle de défense (répulsifs et toxiques) et ceux de type indole et strychnine sont répulsifs pour nombre d'insectes (Wink, 1985).

Ce même auteur, indique que les quinolizidines, particulièrement représentées dans le genre *lupinus* sont mortels pour les insectes à une concentration de 3 à 50 Mm. De plus, les

larves de *Callosobruchus maculatus* meurent sur des boulettes de farine de *Vigna unguiculata* additionnées d'alcaloïdes (Janzen *et al.*, 1976).

▪ **Les acides aminés non protéiques**

Ils sont rencontrés dans un très grand nombre d'espèces végétales, particulièrement chez les légumineuses, dans les graines et /ou les plantules. Plus de 600 en ont été découverts depuis 1948 et seulement quelques uns (ornithine, homoserine) sont communément impliqués dans le métabolisme primaire en tant qu'intermédiaire (Rosenthal, 1991). Dans les plantes, ils se présentent majoritairement sous forme libre. Ils peuvent être répartis dans toute la plante mais les concentrations les plus élevées sont observées dans les graines. La canavanine atteint une concentration de 127g/kg de poids sec dans les graines de *Dioclea megacarpa* et la mimosine de 145g/kg dans celles de *Leucaena leucocephala* (D'Mello, 1991).

Bien que le rôle de ces composés ne soit pas tout à fait clair, il existe des évidences sur l'implication de certains d'entre eux dans la défense des plantes qui les produisent. L'effet toxique de la canavanine largement répandue chez les légumineuses, isolée de *Canavalia ensiformis*, un analogue de l'arginine, vis-à-vis des microorganismes et des insectes ne fait plus de doute (Bell, 1987). Elle est délétère pour de nombreux lépidoptères dont *Manduca sexta*. A une concentration de 0,05% dans l'alimentation de cet insecte, elle entraîne des abérations de croissance chez l'adulte et une sévère diurèse chez les larves (Rosenthal, 1991).

En somme, les plantes disposent de nombreux systèmes de défense basés sur des molécules de natures diverses qui agissent souvent en synergie. Nombreux sont les insectes contournant certaines défenses des plantes, soit en excréant simplement les composés toxiques, soit en les transformant en sous produits non toxiques voire en détournant ces composés toxiques pour se protéger eux-mêmes de leurs prédateurs. Tandis que la composition chimique de la plante est probablement un facteur majeur déterminant le choix de la plante hôte par l'insecte. Malgré un arsenal de molécules de défense, protéique ou non, les espèces végétales sont très généralement toujours sensibles aux attaques d'un certain nombre de pathogènes ou de prédateurs. Lorsque des plantes cultivées d'importance agroalimentaire mondiale sont sensibles à des ravageurs causant de gros dégâts, la recherche de nouveaux moyens de lutte s'impose. Elle peut se faire par synthèse chimique, par recherche de prédateurs ou pathogènes naturels du ravageur ou par détection de nouveaux composés toxiques naturellement présents dans une espèce végétale ou non.

1.3. Contrôle du charançon du grain *Sitophilus granarius*

Partout dans le monde, l'alimentation de l'humanité est basée sur les aliments amylacés, parmi lesquels les céréales tiennent la première place. Les céréales sont consommées sous différentes formes en fonction des habitudes alimentaires. L'abondante consommation de ces denrées fait qu'elles doivent être protégées contre les déprédateurs. La conservation des céréales est un défi que doit relever l'humanité en général, et les pays en voie de développement en particulier. De nombreux déprédateurs, compte tenu des conditions d'humidité et de température favorables, attaquent rapidement ces céréales au champ ou en stock (Delobel et Tran, 1993).

Ces ennemis des denrées alimentaires appartiennent à de nombreuses espèces tant d'insectes que d'acariens. Les insectes des denrées stockées appartiennent à 3 ordres : les coléoptères, les lépidoptères et les psocoptères. Les coléoptères constituent les plus grands ennemis des stocks alimentaires. Dans l'immense diversité de cet ordre, un certain nombre d'espèces représentent un grave danger pour les ressources alimentaires de l'homme. Ces déprédateurs sont redoutables, surtout dans les régions chaudes, car favorisés par les conditions climatiques. Dans ces régions la température moyenne annuelle est toujours supérieure à 20°C, l'humidité relative est élevée et il y a une quasi absence de saisons (Lepesme, 1944 ; Delobel et Tran, 1993). Comme une ironie du sort, c'est dans cette partie de la planète que se trouve concentrée plus de la moitié de la population mondiale pauvre.

Parmi les coléoptères les plus voraces, le genre *Sitophilus* est sans nul doute celui qui cause le plus de dégâts en quantité et en qualité. Des trois espèces les plus connues *S.granarius* (L), *S.oryzae* (L) et *S.zeamais* (M). Les deux dernières sont devenues cosmopolites et on les rencontre sous tous les climats, la première étant plus septentrionale (Longstaff, 1981). Ils sont comme les plus grands destructeurs des céréales stockées (Champ et Dyte, 1978). Cette grande puissance de destruction est rendue possible grâce à la présence des bactéries symbiotiques endocellulaires qui complètent la nourriture de ces insectes, notamment en vitamines (Wicker, 1984).

La lutte contre les ravageurs des stocks étant indispensable, le choix des moyens doit se poser en termes d'efficacité de contrôle, de rentabilité et de sécurité pour le consommateur futur de la denrée (Schiffers *et al.*, 1990).

En somme, le souci majeur d'un stockeur est de garder son stock de céréale intact. Un ensemble de mesure préventive et curative, il s'agit de toutes techniques destinées à réduire l'infestation au champ, au début du stockage ainsi que pendant le stockage (Addor, 1995).

- **La lutte préventive**

Nous ne pouvons pas passer sous silence les moyens prophylactiques élémentaires à mettre en œuvre pour éviter l'apparition des insectes dans les denrées stockées. Le bon sens commande de réunir et de maintenir des conditions de conservation adéquates et adaptées à la denrée que l'on doit entreposer (Schiffers *et al.*, 1990).

Les facteurs à considérer tiennent compte de la nature de l'entreposage, de la température et de l'humidité régnant dans l'entrepôt. Cependant, une hygiène minimum doit être respectée lors de l'entreposage à savoir le triage des grains, le nettoyage et le traitement chimique des locaux, des sacs et des abords à l'aide des produits recommandés. Une lutte contre les rongeurs, les oiseaux, sera envisagée (Ducom, 1987). Plusieurs méthodes de lutte ont été évoquées ; nous citerons : La lutte par dépistage et par piégeage.

- **La lutte curative**

Elle intervient directement contre les insectes en place. Toutefois, si de nombreux moyens ont été préconisés, si quelques uns d'entre eux présentent une valeur certaine, il n'en est encore aucun, remplissant toutes les conditions qu'on voudrait voir réunies dans le procédé pratiquement idéal : efficacité absolue, rapidité d'action, commodité d'emploi, innocuité vis-à-vis de l'homme et des animaux domestiques (Schiffers *et al.*, 1990). Parmi ces moyens nous citons : la lutte physique, génétique, biologique et chimique.

Face à l'ampleur des phénomènes de résistance aux insecticides et aux risques liés à leur application ; différents efforts ont été réalisés afin d'aboutir à une lutte intégrée contre les ravageurs des céréales stockées et diminuer ainsi progressivement la quantité des pesticides utilisés (Fields, 1992).

Aussi, il indique que, sans vouloir critiquer le mérite des méthodes chimiques qui ont permis et permettent encore de sauver d'importantes quantités de denrées alimentaire, différentes méthodes alternatives doivent être envisagées. La substitution ne sera ni rapide ni

facile car elle nécessite des changements d'habitudes et d'importants investissements financiers avec le souci grandissant du respect de l'environnement et de la santé humaine et animale, les lutttes biologiques et variétales sont donc appelées à se développer.

1.3.1. Entomotoxines végétales

Les protéines végétales de défense des plantes sont tout aussi diverses et efficace que les métabolites secondaires. D'après Carlini and Grossi de sa (2002), nous nous limiterons ici aux principales protéines anti-insectes des végétaux riches en cystéines, et impliqués dans la défense des plantes (tableau 2).

▪ Propriétés générales du PA1b

Le peptide PA1b, constitué de 37 acides aminés (4kDa), est une protéine majeure du petits pois qui est synthétisé simultanément à partir d'une polyprotéine PA1 (pea albumin 1) lors du remplissage de la gousse. Cette albumine possède une teneur élevée en cystéine 16,2 % (Higgins *et al.*, 1986).

Bien que cette protéine ne représente que 5 % des protéines totales de la graine de pois, elle contribue à 50 % des réserves en acides aminés soufrés de la graine. Depuis la découverte des propriétés entomotoxiques de la protéine PA1b pour déterminer leur structure (Jouvensal *et al.*, 2003), pour élucider le mécanisme à la base de leur toxicité (Gressent *et al.*, 2003) et pour étudier leur conservation chez les Fabacées (Louis *et al.*, 2004).

La forte toxicité de la protéine PA1b envers les charançons des grains, sa stabilité lors du stockage et de la dessiccation des graines, associées au fait qu'elle soit consommée en quantité par l'homme et les animaux, sans signe de toxicité ni d'allergénicité, font de ce peptide un candidat idéal pour produire des plantes transgéniques, en particulier des céréales, résistantes aux coléoptères ravageurs des stocks.

De plus, la coexistence de plusieurs isoformes de la protéine PA1b chez le pois (Taylor *et al.*, 2004) comme chez d'autres Fabacées (Louis *et al.*, 2004), permet de définir les isoformes de la protéine PA1b comme une nouvelle entomotoxines végétales.

Tableau 2. Toxicité envers les différents ordres d'insectes des protéines de plantes à activité insecticide et des endotoxines de *Bacillus thuringiensis*.

Protéines	Ordres d'insectes						
	Coléoptères	Lépidoptères	Homoptères	Hémiptères	Orthoptères	Diptères	Hyménoptères
<i>Lectines</i>							
Man	Toxique	Toxique	Toxique	nd	nd	nd	Toxique
GlcNAc	Toxique	Toxique	Toxique	nd	nd	Toxique	nd
GlcNAc/Gal	Toxique	Toxique	Toxique	nd	nd	Toxique	nd
<i>RIP</i>	Toxique	Pas d'effet	nd	nd	Pas d'effet	Pas d'effet	nd
Arcélines	Toxique	nd	nd	nd	nd	nd	nd
IP à serine	Toxique	Toxique	Pas d'effet	Pas d'effet	Toxique	nd	
Cystatines	Toxique	Pas d'effet	Pas d'effet	Toxique	nd	nd	nd
IA	Toxique	Toxique	Pas d'effet	nd	nd	nd	nd
Canatoxine/ Uréase	Toxique	Pas d'effet	nd	Toxique	Pas d'effet	Pas d'effet	nd
<i>Bt</i> toxins	Toxique (Cry3)	Toxique (Cry1et2)	Toxique ?	Pas d'effet	nd	Toxique Cry2et4	Toxique

Toxique : observations lors d'expériences d'alimentation sur milieu artificiel ou plante transgénique ; **Toxicité ?** : existence de données conflictuelles quant à la toxicité ou non de ces protéines ; **nd** : absence de données disponibles. **RIP**: ribosome inactivating protein, **IP**: inhibiteur de protéase, **IA**: inhibiteur d' α amylase, **Man**: mannose, **GlcNAc**: N-acétyl-D-glucosamine, **Gal** : galactose

▪ Relation structure fonction

Les mécanismes nécessaires à l'activité entomotoxique de la protéine PA1b ainsi que son mode d'action sont peu connus. Néanmoins, la conservation des séquences protéiques de PA1b chez le pois et chez les autres Fabacées a permis d'établir un modèle définissant une structure minimale nécessaire à l'activité biologique de ce peptide. La figure 3, montre la structure tridimensionnelle de la protéine PA1b et, est composée de trois feuillets β anti-parallèle, d'une hélice et du motif knottine. Ce motif résulte de l'agencement particulier des 6 cystéines, structurant trois ponts disulfures, qui se combine pour former un nœud verrouillant ainsi le cœur de la protéine (Jouvensal *et al.*, 2003).

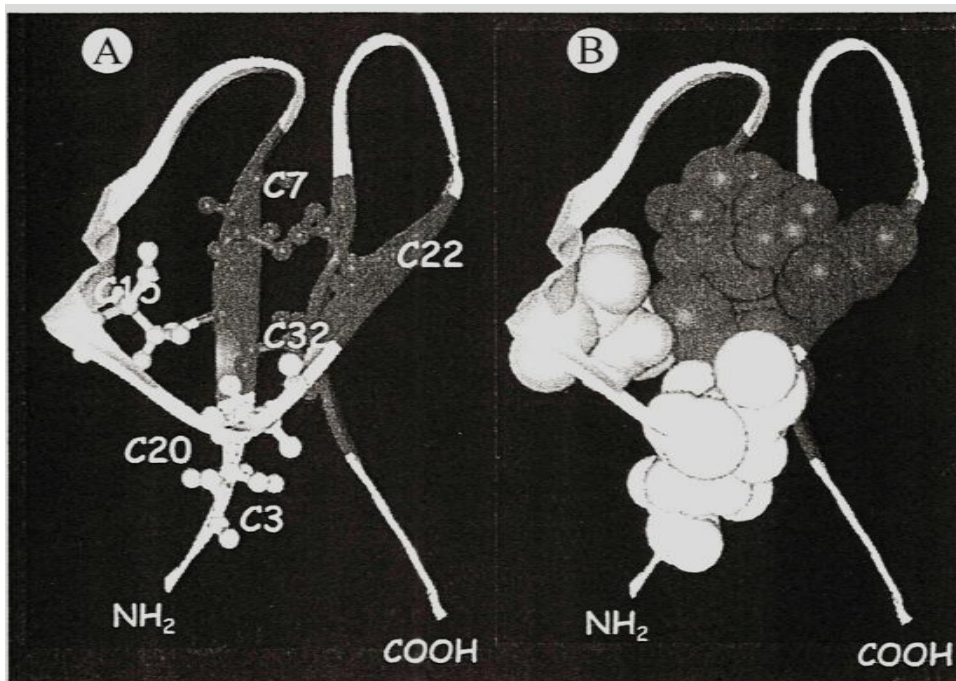


Figure 3. La structure tridimensionnelle de la protéine PA1b. Feuillet anti-parallèle, hélice et motif knottine (A) ; Cœur de la protéine (B).

▪ La famille des A1b au sein de la famille des légumineuses

- *Présentation de la famille des légumineuses*

Les légumineuses ou fabaceae sont classées parmi les Angiospermes, Eudicotylédones, Core Eudicotylédones, Rosides, Eurosides I, Fabales. Elles sont sœurs des Polygalaceae, composant avec les familles Quillajaceae et Surianaceae, les Fabales (Doyle *et al.*, 2000). Il s'agit de la troisième plus grande famille d'Angiospermes en nombre d'espèces (après les Orchidaceae et les Asteraceae) avec plus de 18000 espèces classées en 750 genres

environ (Anonyme, 2001). C'est un des plus importants groupes de plantes pour l'homme, servant de cultures, de fourrages d'engrais verts et produisant un grand nombre de composés utiles comme des médicaments, des poisons, des teintures ou de parfums. Les légumineuses sont représentées dans presque tous les milieux terrestres (excepté en Antarctique). Certains vivent dans l'eau mais il n'existe pas d'espèces marines. Les espèces vont des herbes naines de l'arctique et des montagnes aux immenses arbres de la forêt tropicale. La principale caractéristique unifiant ces espèces est le fruit, la gousse, modifiée de diverses façons pour faciliter le transport par le vent, l'eau et les animaux. La famille est classiquement divisée en trois sous familles : Papilionoideae, Caesalpinioideae et Mimosoideae, parfois considérées comme trois familles séparées. On les distingue le plus souvent par leurs fleurs.

- Phylogénie

La taxonomie des légumineuses est en constante évolution. Les sous familles Papilionoideae et Mimosoideae correspondent véritablement à des groupes monophylétiques, inclus dans les Caesalpinioideae, paraphylétiques (Doyle *et al.*, 1997 ; Doyle *et al.*, 2000). Chacune des sous familles est divisée en tribus et sous tribus définies d'après des caractéristiques morphologiques et sensées regrouper plusieurs genres apparentés. Pour les Papilionoideae, les différentes tribus et leurs relations définies par (Polhill, 1981) sont représentées dans la figure 4.

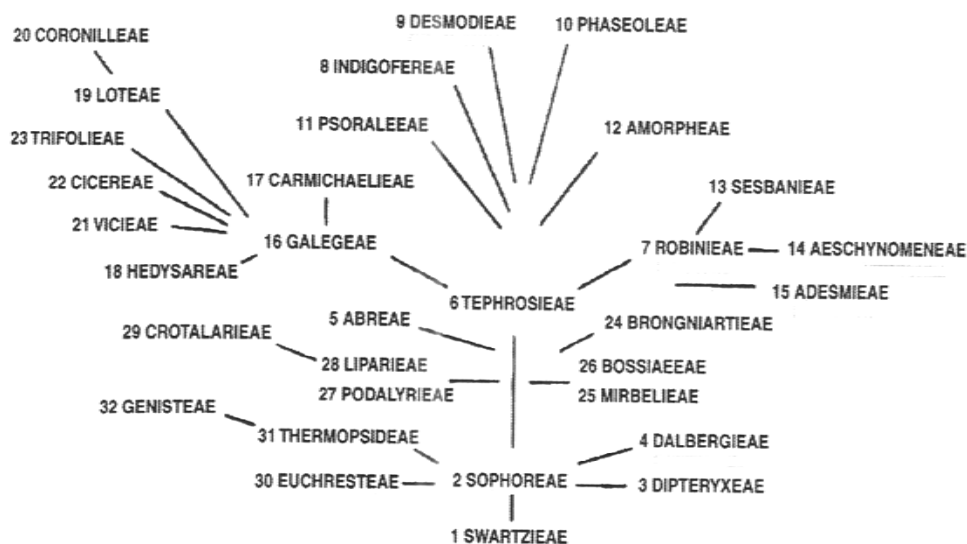


Figure 4. Relations phylogénétiques putatives entre tribus au sein des Papilionoideae

1.3.2. Entomopathogènes

Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les bactéries, les champignons, les virus, les nématodes et les protozoaires. Les formulations de biocides à base de micro-organismes deviennent de plus en plus performante avec des prix compétitifs (Ahmed et Leather, 1994).

Ces micro-organismes sont naturellement présents dans l'environnement (sol, air et eau) et infectent généralement leur hôte soit par ingestion, par la cuticule ou par les orifices. Le pathogène se multiplie dans l'hôte en lui causant des dommages par destruction des tissus, par septicémie ou toxémie entraînant sa mort plus ou moins immédiate. Tous ces micro-organismes possèdent des formes de résistance leur permettant de persister dans l'environnement et de perpétuer leur cycle de vie (Jourdeuil *et al.*, 1992).

Cependant, les micro-organismes ont des spectres d'action assez étroits à cause de certains facteurs abiotiques qui peuvent être limitant pour leur développement optimal. Les ultra-violets (Fargues *et al.*, 1988), les variations sub-optimales de température (Starnes *et al.*, 1993) et de l'humidité (Ramoska, 1984) sont détritantes pour la plupart des micro-organismes.

▪ Les bactéries

Les bactéries sont responsables des étapes finales du chauffage microbiologique qui se produit en grains et graines (Christensen *et al.*, 1982). De nombreuses bactéries peuvent atteindre plusieurs millions par gramme sur les grains fraîchement récoltés (Richard-Molard in Multon, 1982). Plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique (Starnes *et al.*, 1993).

Ces bactéries entomopathogènes appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les Bacillaceae, Enterobacteriaceae et Pseudomonaceae (Greathead *et al.*, 1994). A l'heure actuelle, *Bacillus thuringiensis* et *B.sphaericus* sont les espèces les plus utilisées en lutte contre les ravageurs. *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia marcescens* (Saik *et al.*, 1990) sont des agents potentiels de lutte.

Ainsi, il a été démontré qu'une application de *Pseudomonas syringae* sur les insectes des stocks, provoque non seulement une augmentation significative du point le plus frais de ces espèces, mais diminue l'efficacité du mécanisme naturel aux températures basses (Fields, 1991). Cependant, l'utilisation répétée des bactéries peut toutefois, comme les pesticides chimiques, entraîner une résistance chez certaines espèces (Dunphy et Tibelius, 1992).

- **Les virus**

Les virus entomopathogènes se regroupent en sept familles. Ce sont, les Baculoviridae, Reoviridae, Poxviridae, Iridoviridae, Parvoviridae, Picornoviridae et les Rhabdoviridae (Faulkner et Boucias, 1985). Ces familles renferment la plupart des 650 espèces de virus entomopathogènes connues (Khachatourians, 1986). Les baculovirus ont depuis longtemps présenté un intérêt principalement pour leur spécificité. Ils n'ont en effet été observés que chez les invertébrés et en particulier chez les insectes (Devauchelle, 1993).

Les virus sont des parasites obligatoires et ne peuvent se reproduire que dans les cellules animales ou végétales. Au cours du processus d'infection dans le noyau des cellules, ces virus forment des corps d'inclusion appelés polyèdres. Ces derniers, une fois ingérés vont être dégradés par les protéases du tube digestif de l'insecte et les virions libérés traversent les cellules intestinales pour se multiplier dans les hémocytes et dans les tissus adipeux. Dans certains cas, les virus liquéfient les corps gras entraînant une turgescence de l'insecte suivi de sa mort. Les polyèdres formés dans le noyau provoquent la polyédrose nucléaire et affectent principalement les lépidoptères et hyménoptères tandis que les baculovirus à corps d'inclusion granulaire causent la granulose et affectent surtout les lépidoptères (Meynadier *et al.*, 1992).

- **Les protozoaires**

Les protozoaires appartiennent à sept phyla, dont quatre, les Ciliophora, Sarcocystophora, Apicomplexa et Microspora sont pathogènes des insectes (Dent, 1991). Les familles les plus utilisées en lutte biologique sont les Amoebidae et les Nosematidae (Greathead *et al.*, 1994).

Les protozoaires provoquent des maladies chroniques à évolution lente ou des zoonoses, qui affaiblissent et affectent la croissance ou la fécondité de leur hôte plutôt que d'entraîner une mort rapide (Cloutier, 1992). Cependant, l'hôte infecté devient souvent plus

sensible à d'autres infections d'origines virales, bactériennes ou mycoses (Khachatourians, 1986).

- **Les nématodes**

Il existe plusieurs espèces de nématodes parasites d'insectes. Pour la plupart d'elles, l'infection se fait à partir d'œufs déposés sur les feuilles des plantes. Les œufs éclosent et les larves regagnent l'homocèle et quittent l'hôte au quatrième stade par perforation des tissus inter-segmentaires. Il s'en suit la mort de l'insecte. Certaines espèces de Steinermatidae et Heterorhabditidae vivent en symbiose avec des bactéries du genre *Xenorhabdus*. Les larves pénètrent l'hôte par les orifices naturels et même par la cuticule ou elles libèrent les bactéries qui tuent rapidement l'hôte.

Quoique, de bons agents en lutte biologique, l'utilisation des nématodes en zone sèche est limitée par les facteurs abiotiques particulièrement les ultraviolets qui sont délétères pour tous micro-organismes (Burgess, 1981) et peuvent entraver le processus d'infection de l'hôte (Greathead *et al.*, 1994).

- **Les champignons**

Parmi les micro-organismes utilisés en lutte biologique, plus de 700 espèces de champignons sont entomopathogènes (Starnes *et al.*, 1993) et jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Wraight et Roberts, 1987). Ils appartiennent au sous-taxon des Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina et Deuteuromycotina. Les espèces des genres *Beauveria*, *Metharizium*, *Verticillium*, *Erynia*, *Hirsutella*, *Entomophthora* et *Entomophaga* sont les plus utilisées en lutte biologique contre les ravageurs des cultures (Goettel, 1992).

Les champignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact pendant tous les stades de l'insecte sensibles (Carruthers et Soper, 1987).

Dans la protection des céréales stockées, la lutte biologique n'est pas une méthode fréquemment utilisée (Cox et Wilkin, 1996). Néanmoins, certains antagonistes jouent un rôle dans la pratique, comme l'utilisation des micro-organismes basé sur la réduction de la vigueur des insectes nuisibles au froid (Richard *et al.*, 1992).

Les possibilités d'utilisation des agents gel-nucléants, bactéries et champignons dans la lutte contre les insectes des denrées stockées, ont débuté en 1990 au Canada et aux Etats-Unis (Steigerwald *et al.*, 1995).

La majorité des insectes ont une capacité de résistance limitée à des températures basses, inférieur à 0°C (Mignon *et al.*, 1995). De plus, des auteurs spéculent sur le mécanisme d' ice nucleating qui active les micro-organismes dans l'intestin des insectes des céréales stockées et régularise la tolérance au froid (Cannon et Block, 1988); Mais elle a été confirmée par Lee *et al.* (1991).

Pour résister aux conditions climatiques hivernales, ces insectes ont développé différentes stratégies leur permettant d'abaisser leur point de congélation et donc éviter la congélation des tissus internes et de se maintenir en vie à plusieurs degrés sous le point de fusion des liquides corporels (Mignon *et al.*, 1996).

En somme, l'utilisation de micro-organismes entomopathogènes est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement.

Chapitre II. Bio détérioration du blé stocké dans la région de Sétif

2.1. Objectif

L'objectif de cette étude est d'effectuer une série d'analyse biologique, physico-chimique et technologique afin de déterminer l'état du blé entreposé.

2.2. Matériels et méthodes

2.2.1. Analyse biologique du blé

Durant la campagne agricole 2004-2005, nous avons retenu aléatoirement dans la région d'étude, deux cellules en béton de la C.C.L.S, d'une capacité de stockage de 1500 qx chacune, d'une hauteur de 15 mètre, d'un diamètre de 4 mètre à fond conique et d'une contenance de 800 qx. Ces cellules renferment du blé tendre (Anza) et du blé dur (INRAT 69) du type ordinaire.

Dans chaque cellule, trois prélèvements au total ont été effectués mensuellement à des intervalles réguliers, pendant la durée de stockage de 90 jours. Pour chaque prélèvement, on a réalisé un échantillonnage. Chaque échantillon moyen de 01 kilogramme est constitué par vingt sept échantillons élémentaires d'environ 38 grammes chacun équitablement répartis, en volume, à trois niveaux de profondeur de la surface du grain : niveau I (20 cm), niveau II (7 m), niveau III (12 m) et sur trois couronnes concentriques (figure 5) en utilisant une canne sonde.

▪ Analyse microbiologique.

La méthode décrite dans la NA.761/90, consiste à déterminer les moisissures présentes dans les farines et semoule de blé dans le milieu de culture OGA (Annexe). Pour cela, on prélève directement 20 g de farine, dans la fiole stérile à col large et préalablement tarée, au moyen d'une cuillère stérile, à long manche.

Ensuite, on introduit dans la fiole à col large, contenant l'échantillon, 180 ml de diluant au moyen d'une éprouvette stérile, tout en agitant manuellement ou mécaniquement pour empêcher le produit d'adhérer aux parois de la fiole (suspension mère dilution 1/10).

Nous effectuons également d'autres dilutions au 1/100 et au 1/1000 et nous homogénéisons. On prend deux boîtes de pétri stériles et on transfère, dans un premier temps, dans chacune de ces boîtes à l'aide d'une pipette stérile 0,2 ml de la suspension mère, et dans un deuxième temps, 1 ml de la dilution au 1/100. On opère de la même manière avec la dilution au 1/1000 en utilisant deux autres boîtes de Pétri stériles. Une fois, l'opération de transfère terminé, on coule immédiatement, dans chacune des boîtes de Pétri, la gélose fondue et refroidie à $45 \pm 0,5$ °C et on mélange soigneusement l'inoculum à la gélose, en agitant doucement les boîtes. Ensuite, on place les boites sur une surface fraîche et horizontale et on laisse se solidifier. On retourne les boîtes de Pétri après solidification du milieu de culture et on les incube à $25 \pm 0,1$ °C pendant 5 jours. Enfin, on procède à l'identification des moisissures.

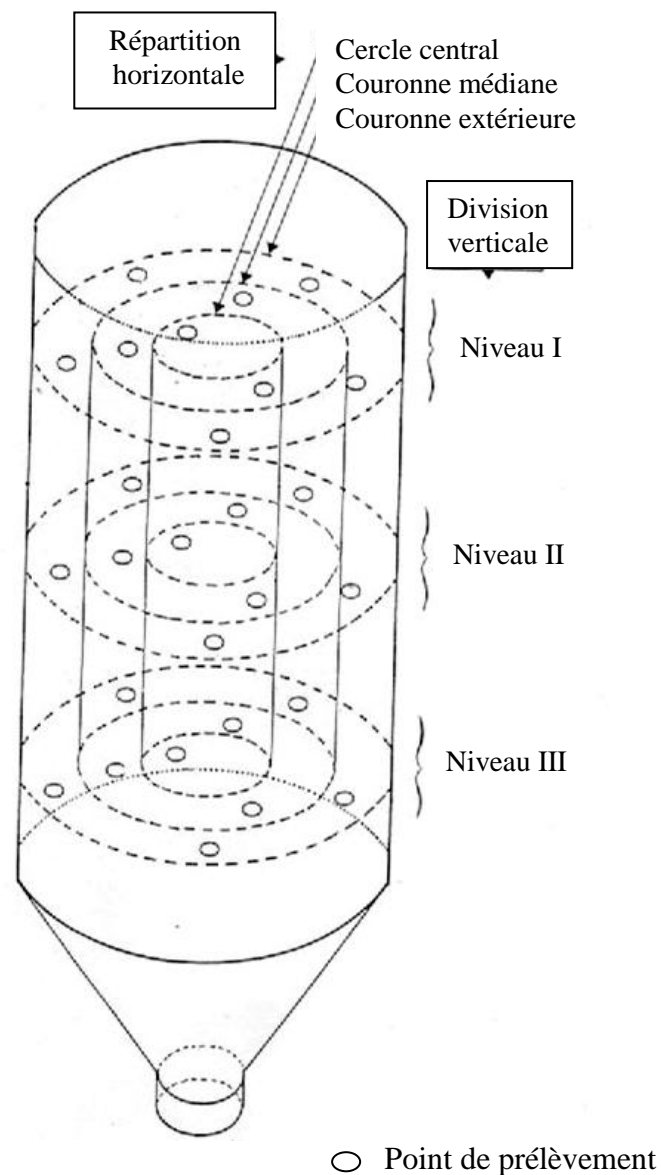


Figure 5. Schéma général d'une cellule de stockage (Originale).

▪ Analyse acarologique

L'analyse acarologique est effectuée le jour même, ou dans les 48h qui suivent le prélèvement. Les acariens observés à l'œil nu sont récupérés à l'aide d'une aiguille ou un pinceau imbibé d'alcool et sont mis dans une boîte de Pétri pour les conserver dans de l'alcool à 90° pour une ultérieure détermination.

Pour réaliser le montage, il faudrait effectuer un éclaircissage des acariens en vue de les dégraisser, pour mieux les observer au microscope optique. Les acariens sont mis dans des verres de montre remplis d'acide lactique pendant 24h et sont disposés sur une plaque chauffante pendant 10 minutes, jusqu'à leur complet éclaircissage.

On met un acarien par lame sur laquelle, on dépose une goutte du liquide de Faure et une lamelle et, on laisse sécher (Cangardel et Fleurat-Lessard, 1978). Ce milieu spécifique appelé : Milieu Berlese-Faure (Annexe), permettant de conserver les acariens.

▪ Analyse entomologique

L'analyse entomologique s'effectue le jour même du prélèvement. On a procédé au tamisage à l'aide d'un tamis de 2 mm d'ouverture de maille, pour recueillir ainsi facilement les insectes. On refait l'opération 3 à 5 tamisages consécutifs pour récupérer l'ensemble de la population d'insectes.

Si la présence de formes libres est facilement décelable par simple tamisage des échantillons, il n'en est pas de même pour les formes juvéniles cachées à l'intérieur du grain. Pour cela, on peut recourir à la méthode biologique qui a pour principe de laisser évoluer les formes cachées jusqu'à émergence des adultes (Cangardel et Fleurat-Lessard, 1978).

- *Evaluation du degré d'infestation*

A partir de l'échantillon moyen de 01 kilogramme, nous évaluons le degré d'infestation des insectes dans les cellules de stockage. L'échantillonnage est réalisé durant trois mois de stockage de Juillet à Septembre 2005.

L'évaluation du degré d'infestation des insectes est fournie par les indications suivantes (Champ et Dyte, 1978) :

- Plus de 15 insectes	: Infestation très forte	+++++
- De 10 à 15	: Infestation forte	++++
- De 5 à 9	: Infestation moyenne	+++
- De 2 à 4	: Infestation légère	++
- 1 insecte	: Infestation très légère	+

- ***Evaluation du taux d'attaque***

De chacune des deux cellules de stockage, nous prélevons au hasard au sein de chaque échantillon moyen de (01) kilogramme, mille (1000) grains de blé que nous séparons en grains sains et en grains attaqués. L'échantillonnage est réalisé durant trois mois de stockage, de Juillet à Septembre 2005. Ceci va nous permettre de calculer le pourcentage d'attaque par la méthode de comptage et pesée (Pointel, 1980).

$$\text{Pourcentage d'attaque (PA)} = \frac{Na}{Ns + Na} \times 100$$

Où

Ns : Le nombre de grains sains.

Na : Le nombre de grains attaqués.

2.2.2. Appréciation de la qualité du blé stocké

Les analyses physico chimiques et technologiques ont été réalisées au laboratoire de l'E.R.I.A.D de Sétif afin d'apprécier la qualité du blé stocké. Ces analyses sont effectuées à partir de l'échantillon moyen de 1 kg.

▪ **Analyse physique**

- ***Poids de mille grains***

La méthode décrite dans la NA.731/1990 pour la détermination du poids de mille grains, préconise de prélever au hasard un échantillon de blé, de compter les 1000 grains et de les peser à 1 mg près.

$$m_H \text{ (g)} = \frac{m_0 \times 1000}{N}$$

Où :

m_H : masse en g de 1000 grains avec leur teneur en eau existante.

m_0 : masse en g des grains entiers de la quantité prélevée.

N : nombre de grains entiers trouvés dans la masse m_0 .

- ***Teneur en eau du grain***

Pour déterminer la teneur en eau du grain, nous avons fait appel à la méthode décrite dans la NA.1132/1991, qui consiste à peser à 1 mg près la capsule (m_0) et une quantité d'un échantillon de blé suffisante de manière à avoir une prise d'essai d'environ 5 g. On broie et on verse la totalité de la mouture obtenue dans la capsule tarée (m_1) et on pèse à 1 mg près.

Ensuite, on effectue un pré séchage, en introduisant la capsule découverte, contenant la prise d'essai et son couvercle dans l'étuve et on les laisse séjourner deux heures, temps compté à partir du moment où la température de l'étuve est à nouveau comprise entre 130 et 133°C. Une fois le temps de séchage est atteint (7 à 10 mn), on retire la capsule de l'étuve, on la couvre et on la place dans le dessiccateur où elle restera le temps nécessaire (30 à 40 mn), afin d'atteindre la température ambiante.

Enfin, on procède à une pesée à 1 mg près (m_2). La teneur en eau est exprimée en pourcentage de la masse du produit selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

où :

m_0 : masse en g de la capsule.

m_1 : masse en g de la capsule plus la prise d'essai avant séchage.

m_2 : masse en g de la capsule plus la prise d'essai après séchage.

- **Analyse chimique**

- *Teneur en protéine*

Pour déterminer la teneur en protéines du blé, on a utilisé la méthode de Kjeldahl, qui est décrite dans la NA.1185/1990. L'azote organique contenu dans l'échantillon est transformé quantitativement en sulfate d'ammonium par minéralisation. La prise d'essai de 1g de farine de blé à 1mg près est mise dans la fiole Kjeldahl, on ajoute 15 ml d'acide sulfurique concentré et 2 g d'un catalyseur (sélénium et sulfate de sodium) et on agite quelques secondes ; le tout est porté à ébullition jusqu'à l'impidité de la solution.

Ensuite on fait une distillation, qui consiste à verser dans la fiole de Kjeldahl contenant 20 ml de sulfate d'ammonium et 20 ml de soude ; le tout est placé dans l'appareil de Buchi. L'ammoniac est ensuite déplacé de son sel par la soude, puis entraîné par de la vapeur d'eau dans une solution d'acide borique qui le retient avant d'être dosé par une solution d'acide sulfurique à 0,1 N.

$$\text{Protéines (\%)} = \frac{0,0014 \times V \times 100 \times K}{P_e} \times \frac{100}{100 - H}$$

Où :

V : Volume d'H₂SO₄ titré

P_e : Prise d'essai

K : Coefficient constant égal à 5,7

H : Teneur en eau de l'échantillon

- *Teneur en amidon*

La détermination de la teneur en amidon du blé repose sur le dosage du glucose après hydrolyse enzymatique. La méthode décrite dans la NA.1829/1990, consiste à déterminer :

- Dans un premier temps le pouvoir rotatoire total (P), après avoir pesé à 1 mg près 2,5 g de blé et les introduire dans une fiole de 100 ml, on ajoute 25 ml d'acide chlorhydrique et on agite pour obtenir une bonne répartition de la prise d'essai.

Ensuite, on ajoute à nouveau 25 ml d'acide chlorhydrique et on plonge la fiole dans un bain d'eau bouillante et, durant les trois premières minutes qui suivent, on agite énergiquement et régulièrement pour éviter la formation d'agglomérats. Après 15 mn, on retire la fiole et on additionne 30 ml d'eau froide et on refroidit immédiatement jusqu'à 20°C.

Après refroidissement, on ajoute 5 ml de solution Carrez I et on agite pendant 1 mn. De plus, on introduit 5 ml de Carrez II et on agite à nouveau pendant 1 mn. On complète au volume avec de l'eau, on homogénéise et on filtre. Enfin, on mesure le pouvoir rotatoire de la solution dans un tube de 200 mm au polarimètre.

- Dans un deuxième temps le pouvoir rotatoire (P'), après avoir pesé à 1 mg près 5 g de blé, les introduire dans une fiole de 100 ml et on ajoute 80 ml d'éthanol à 40%. On laisse le ballon en attente durant 1 h à la température ambiante et on agite énergiquement six fois de façon à ce que la prise d'essai soit bien mélangée à l'éthanol. On porte ensuite au volume avec de l'éthanol à 40%, on homogénéise et on filtre.

On introduit, à la pipette 50 ml du filtrat dans un erlenmeyer de 250 ml, on ajoute 2,1 ml d'acide chlorhydrique à 25 % et on agite énergiquement. On ajuste un réfrigérant à reflux à l'erlenmeyer et on plonge celui-ci dans un bain chaud, on transvase son contenu dans une fiole jaugée de 100 ml, on rince avec un peu d'eau froide et on refroidit jusqu'à 20°C. On défèque ensuite à l'aide des solutions Carrez I et II. Enfin, on complète au volume avec de l'eau, on homogénéise, on filtre et on mesure le pouvoir rotatoire.

$$\text{Amidon (\%)} = \frac{2000 \times (P - P')}{(\alpha)^{20^\circ\text{C}}}$$

Où :

P : Pouvoir rotatoire total en degrés d'arc

P' : Pouvoir rotatoire en degrés d'arc donné par les substances solubles dans l'éthanol à 40%.

(α)^{20°C} : Pouvoir rotatoire spécifique de l'amidon pur de blé (+ 182,7°).

- **Analyse technologique**

- *Teneur en gluten humide et sec*

La détermination de la teneur en gluten du blé repose sur la préparation d'une pâte au moyen d'un échantillon de 10 g de farine à 0,01 g et de 5,5 ml d'une solution de chlorure de sodium. La méthode décrite dans la NA.730/1990, préconise l'isolement du gluten humide par lavage de cette pâte avec la solution de chlorure de sodium, jusqu'à ce que l'eau de lavage ne soit plus laiteuse mais à peine trouble. Ensuite, on essore en comprimant la boule de gluten entre les mains et enfin, on pèse le produit obtenu.

$$\text{Gluten humide (\%)} = \frac{m \times 100}{10}$$

Où

m : la masse de la prise d'essai (10g) effectuée sur le gluten humide

Pour la détermination du gluten sec, on dépose la boule de gluten humide sur une plaque métallique préalablement tarée à 0,01 g près dans une étuve à 130±2 °C pendant deux heures. Après ce temps, on retire la plaque et on pratique trois ou quatre incisions parallèles sur le gluten partiellement séché à l'aide d'un scalpel. Ensuite, on remet la plaque dans l'étuve où elle restera encore environ trois heures, de manière que le temps total d'étuvage soit de cinq heures.

En somme, on retire la plaque et le gluten sec obtenu et on les laisse refroidir dans le dessiccateur jusqu'à la température ambiante environ 30 mn, puis on les pèse à 0,01 g près.

$$\text{Gluten sec (\%)} = \frac{m_1 - m_0}{m} \times 100$$

Où

m : La masse de la prise d'essai (10 g) effectuée sur le gluten humide.

m₀ : La masse de la plaque (g).

m₁ : La masse de la plaque et du gluten sec (g).

- **Indice de sédimentation (Test de Zeleny).**

La méthode préconisée selon la NA.1184/1990, consiste en la mise en suspension dans 50 ml de bleu de bromophenol de 3,2 g de farine de blé à 0,05 g près. On agite l'éprouvette graduée pendant quelques secondes, puis on la place dans un agitateur de Zeleny pendant 5 mn.

Ensuite, on retire l'éprouvette et on ajoute 25 ml de réactif de sédimentation (acide lactique-isopropanol). Après un temps total de 10 mn, on retire l'éprouvette de l'agitateur et on laisse reposer pendant 5 mn, puis on note le dépôt à 0,5 ml près.

2.3 Résultats et discussion

2.3.1. Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique des grains de blé a révélé une fructification de moisissures (tableau 3). Nous notons la présence des souches de moisissures des champs telles que *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp et *Rhizopus* sp. La moisissure du blé a un très grand effet sur le développement de la population des insectes par rapport à la température. Ainsi, une augmentation de 10 à 14 % à 32°C, résulte une densité élevée de population d'insectes de 20 fois en 365 jours (Flinn et Hagstrum, 1990).

De plus, Pfohl-Leszkowicz *et al.* (2001), mentionnent que les moisissures portées par le grain à la récolte comme *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* requièrent une activité thermodynamique de l'eau du grain élevée, de l'ordre de 0,9 pour se développer et éventuellement produire des mycotoxines. L'activité thermodynamique au cours du stockage étant proche de 0,7 ; ces moisissures hygrophiles ainsi que les bactéries pathogènes vont régresser sans disparaître complètement (Suchet, 1995).

En somme, le développement des microorganismes est dû aux mauvaises conditions de stockage des grains de céréales. Leur prolifération est favorisée par une humidité élevée et une température comprise entre 20 et 40°C (Rehman, 2006).

2.3.2. Analyse acarologique et entomologique

L'analyse acarologique a révélée la présence d'un acarien *Cheyletus eruditus* S. et l'analyse entomologique, la présence de ravageurs primaires *Sitophilus granarius* L., *Rhyzopertha dominica* F. et de ravageurs secondaires *Tribolium castaneum* H et *Ephestia Kuhniella* Z. (tableau 3).

Tableau 3. Les espèces de ravageurs observés dans les stocks de blé dans la région de Sétif durant la campagne agricole 2004/2005

Analyses	Espèces
- Microbiologique	<i>Alternaria</i> sp
	<i>Cladosporium</i> sp
	<i>Rhizopus</i> sp
- Acarologique	<i>Cheyletus eruditus</i> S
- Entomologique	<i>Sitophilus granarius</i> L.
	<i>Rhyzopertha dominica</i> F.
	<i>Tribolium castaneum</i> H
	<i>Ephestia Kuhniella</i> Z.

▪ Evaluation du degré d'infestation

Le tableau 4, montre que l'espèce la plus fréquente est *Sitophilus granarius* L., avec une fréquence moyenne de 18,77 insectes et les espèces les moins fréquentes et rares sont *Rhyzopertha dominica* F., *Tribolium castaneum* H et *Ephestia Kuhniella* Z., avec respectivement 12.22, 8.66 et 2.89 insectes.

Cette différence de fréquence entre les insectes rencontrés, s'explique par le fait qu'il y a des espèces primaires et des espèces secondaires d'une part et, d'autre part, la concurrence qui existe entre deux ou plusieurs espèces pour l'utilisation d'une même ressource

énergétique, d'un même lieu de ponte ou d'un même abri, rentre dans le cadre d'une compétition interspécifique (Labeyrie, 1967).

De plus, il signale que l'intensité de ce phénomène dépend essentiellement de la densité des populations et des ressources disponibles. En somme, le degré d'infestation moyen des insectes est de l'ordre de 10,63 ce qui correspond à une infestation forte.

Tableau 4. Evaluation du degré d'infestation

Espèces observées	Mois	Juillet	Août	Septembre	Moy/espèce
<i>Sitophilus granarius</i> L.		20.00	23.33	13.00	18.77
<i>Rhyzopertha dominica</i> F.		12.66	14.33	9.66	12.22
<i>Tribolium castaneum</i> H.		10.00	12.66	3.33	8.66
<i>Ephestia Kuhnii</i> Z.		3.00	4.00	1.66	2.89
Moyenne / mois		11.41	13.58	6.91	10.63

▪ **Evaluation du taux d'attaque**

L'évaluation du pourcentage d'attaque des espèces échantillonnées au niveau des cellules de stockage est mentionnée dans le tableau 5.

On remarque que le taux d'attaque provoqué par les espèces d'insectes sur le blé stocké a atteint une moyenne de l'ordre de 15,03%.

Tableau 5. Evaluation du taux d'attaque

Mois	Juillet	Août	Septembre	Moyenne
Grains (1000)				
Grains sains (Ns)	833	804	912	849.66
Grains attaqués (Na)	167	196	88	150.33
Taux d'attaque (PA)	16.70	19.60	8.8	15.03

Ce pourcentage peut être plus important si l'on considère les déprédateurs des céréales stockées autres que les insectes. Il s'agit des microorganismes tels que les moisissures et les bactéries, des acariens, des oiseaux et des rongeurs.

De ce fait, Dunkel (1988) a établi une corrélation positive entre le taux d'infestation par les insectes et le nombre de germes de moisissures présents. De plus, Ivbijaro *et al.* (1979) mentionnent le rôle des insectes dans le transport mécanique des acariens et des conidies.

Notons par ailleurs, une relation étroite entre l'évolution du degré d'attaque et le niveau de peuplement de la fréquence d'insectes pour chaque période suscitée.

2.3.3. Analyse physico-chimiques et technologiques

L'évaluation de la qualité du blé pendant 3 mois de stockage est déterminée par l'étude des paramètres physico-chimiques et technologiques.

▪ Poids de mille grains

Le poids de mille grains de ces blés est variable selon leur nature (blé tendre ou blé dur). D'après Gonde *et al.* (1968), la norme commerciale du poids de mille grains est de 35 à 55 g.

Ainsi, les échantillons prélevés dans les cellules de stockage montrent que ces blés sont relativement bons (tableau 6). Malheureusement, après trois mois de stockage, les résultats obtenus montrent que ces valeurs de PMG ont diminué de 7,60 et 8,42 % respectivement pour le blé tendre et le blé dur, en fonction des ravageurs et des conditions de stockage. De plus, ce poids diminue au fur et à mesure que le degré d'infestation augmente et la durée de stockage se prolonge.

▪ Température et humidité

La température enregistrée au début du stockage est de 25 °C pour le blé dur et de 28 °C pour le blé tendre. Ces températures ont baissé de 2 et 4 °C respectivement au cours du stockage. Ainsi, on remarque que ces diminutions sont très loin de la norme préconisée pour le stockage des céréales qui est de 12 °C. De plus, la teneur en eau du grain enregistrée sur les

deux espèces de blés (tableau 6) dépasse légèrement les 14 % recommandé pour une bonne conservation (Fleurat-Lessard, 1989).

De ce fait, Khare (1990), note que l'augmentation de la teneur en eau du grain peut causer l'agrégation des grains, le démarrage de la germination, le développement des moisissures et de pourriture bactérienne dans les cas extrêmes.

Enfin, le phénomène échauffement spontané du grain, dû uniquement à l'activité des insectes est bien connu chez le genre *Sitophilus*. Celui-ci est d'autant plus important que la teneur en eau du grain est élevée (Lasseran et Fleurat-Lessard, 1990).

Tableau 6. Evaluation des paramètres physiques du blé dur et du blé tendre pendant 3 mois de stockage.

Paramètres Physiques						
Paramètres	PMG (g)		Température (°C)		Teneur en eau du grain (%)	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
Blé tendre	35.90	33.17	28	24	15.23	14.10
Blé dur	42.85	39.24	25	23	14.46	14.06

▪ Teneur en protéine

L'observation essentielle qui ressort du tableau 7 est que la valeur protéique augmente pour le blé tendre de 10,9 à 12,3% et diminue pour le blé dur de 13,3 à 7,8 %. Ceci est due vraisemblablement à l'excrétion par l'insecte d'une substance azotée, l'acide urique (Fourar, 1994).

De plus, les protéines conditionnent également l'accomplissement normal du cycle biologique de la plupart des insectes des denrées stockées pour lesquelles représente un besoin nutritionnel de base. Par ailleurs, Jood *et al.* (1993) ont observé une dénaturation et une diminution de la solubilité des protéines après une infestation des insectes des céréales.

▪ Teneur en amidon

La teneur en amidon (tableau 7), présente une réduction de 1,14 et 3,04 % respectivement pour le blé tendre et le blé dur. Ceci s'explique, par le fait que les charançons exigent une certaine énergie pour se développer et secrètent des α amylases, afin de dégrader l'amidon (Baker et Woo, 1988).

De plus, les travaux de Warchalewski *et al.* (2002), montrent que les larves d'*Ephestia Kuhnella* Zell., ne se développent pas du tout sur un régime alimentaire composé uniquement d'amidon de blé. Le même régime allonge le temps de développement des larves de *Tribolium confusum* Duv. Par contre, l'intensité alimentaire est importante chez le *Sitophilus granarius* L. par la présence d' α amylase et les inhibiteurs de la trypsine. Ces résultats témoignent de l'existence d'un appareil enzymatique spécifique dans le tube digestif de ces trois ravageurs de grains.

Tableau 7. Evaluation des paramètres chimiques du blé dur et du blé tendre pendant 3 mois de stockage.

Paramètres Chimiques				
Paramètres	Protéine (%)		Amidon (%)	
	Avant	Après	Avant	Après
Blé tendre	10.9	12.3	65.31	64.17
Blé dur	13.3	7.8	63.75	60.71

▪ Indice de sédimentation

La valeur de l'indice de sédimentation enregistrée pendant la période de stockage (tableau 8), présente une légère diminution pour les deux variétés de blé. Elle passe de 13,5 à 12,3 ml pour le blé tendre et de 14,5 à 13,8 pour le blé dur. Ceci influe sur la capacité de gonflement des protéines du gluten (Sadli, 1992).

Cependant, Jood *et al.* (2000) classent la valeur boulangère du blé à partir du volume de sédimentation comme suit :

- Volume de sédimentation > 70 ml : très bonne force boulangère.
- Volume de sédimentation compris entre 60 et 70 ml : force boulangère moyenne.
- Volume de sédimentation < 60 ml : force boulangère médiocre.

De ce classement, nous dirons que tous nos échantillons de blé y compris le témoin sont de qualité médiocre. Cette qualité technologique s'est détériorée davantage pendant la période de stockage.

▪ **Teneur en gluten humide et sec**

La teneur en gluten humide diminue de 5 % pour les deux variétés de blé ; la teneur en gluten sec diminue également de 2 % pour le blé tendre et de 1 % pour le blé dur (tableau 8). Ceci s'explique par la dénaturation du taux de protéine et la réduction de l'indice de sédimentation (Cahagnier et Fleurat-Lessard, 2002). Par ailleurs, d'après l'échelle de classement de la qualité technologique des blés (Matveef, 1966) :

- Teneur en gluten < à 11% : blé insuffisant.
- Teneur en gluten comprise entre 11 et 15% : blé de bonne valeur boulangère.
- Teneur en gluten > à 15% : blé améliorant.

Nous pouvons déduire que la variété Anza est un blé insuffisant, par contre la variété INRAT 69 ayant une bonne valeur boulangère est devenue insuffisante après avoir subi une diminution au cours du stockage.

Tableau 8. Evaluation des paramètres technologiques du blé dur et du blé tendre pendant 3 mois de stockage.

Paramètres technologiques						
Paramètres	I. Sédimentation (ml)		Gluten h (%)		Gluten sec (%)	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
Blé tendre	13.5	12.3	33.0	28.0	10.5	8.5
Blé dur	14.5	13.8	32.0	27.0	11.0	10.0

2.4 Conclusion

L'étude de la biodétérioration du blé stocké dans la région d'étude a révélée que les paramètres physiques de température et de teneur en eau du grain sont de 25 °C et 14,5% respectivement, supérieurs à la norme de stockage. Pour les paramètres biologique du grain, on note la présence de moisissures, *Alternaria sp*, *Cladosporium sp* et *Rhizopus sp* ; d'un acarien *Cheyletus eruditus* et d'insectes *Sitophilus granarius*, *Rhizopertha dominica*, *Tribolium castaneum* et *Ephestia Kuhniella*.

L'évaluation du degré d'infestation moyen de ces insectes a révélé une forte infestation de l'ordre de 10,63. Nous avons également déterminé avec des moyens de contrôle appropriés, l'impact réel de ces insectes sur les grains de blé, par l'évaluation du taux d'attaque qui est de l'ordre de 15,03%. Pour les paramètres chimiques (protéine, amidon) et technologiques (indice de sédimentation, gluten), nous avons observés des écarts de réductions qui influent sur la qualité du blé stocké.

Les conséquences directes de ces infestations sont désastreuses, surtout en période de chaleur dépassant largement les normes de stockage provoquant ainsi, un échauffement de la masse des grains, une importante production de poussière et finalement des grains inconsommables.

En somme, et compte tenu des pertes considérables qu'ils peuvent engendrer à l'agriculture ; des moyens prophylactiques élémentaires sont nécessaires au niveau des unités de stockage, afin d'éviter ou du moins réduire à un seuil tolérable, la présence des ravageurs des grains stockés.

Chapitre III. Comportement des espèces de céréales aux ravageurs des stocks.

3.1. Effet de la composition biochimique des espèces de céréales sur le comportement de *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. en zone semi-aride de Sétif.

3.1.1. Objectif

Le but de cette étude est l'effet du milieu trophique sur le potentiel biotique de deux espèces, *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. et la relation entre les observations biologiques et la perte quantitative induite par le développement des insectes. La qualité et la sensibilité des céréales influent sur le comportement des deux ravageurs.

3.1.2. Matériels et méthodes

Cette étude a été effectuée au laboratoire de protection des plantes de l'Université de Sétif de 2004 à 2006. Le blé dur (*Triticum durum* L. var Vitron) ; le blé tendre (*Triticum aestivum* Desf. var Hidhab) ; l'Orge (*Hordeum vulgare* L. var Pleasant) ; le Maïs (*Zea mais*) et le riz (*Oryzae sativa*) sont des semences ordinaires et proviennent de la Station Expérimentale de l'Institut Technique des Grandes Cultures de Sétif (Algérie).

Deux espèces d'insectes *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. ont été utilisées. De chaque espèce de céréales, 80 g sont placés dans des boîtes en plastiques (5 x 10 cm) et infesté par *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* selon la méthode décrite par Ciesielska (1972).

En population mono spécifique (4 couples de chaque espèce) et en population hétéro spécifique (4 couples et 2 couples de chaque espèce séparément). Au total, 4 répétitions par traitement ont été effectuées. Les enceintes d'élevage ont été placées dans une étuve réglée à une température constante $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ et $70\pm 2\%$ d'humidité relative (Golebiowska, 1969). Ainsi, les insectes adultes qui ont servi à l'infestation ont été isolés après 12 jours de ponte et les grains laissés à nouveau dans les mêmes conditions jusqu'à ce que les adultes de la seconde génération commencent à émerger (Delobel et Tran, 1993).

Le dénombrement des adultes a été fait deux fois par semaines jusqu'à l'arrêt des émergences. Les critères observés sont le nombre moyen de descendants, la durée moyenne de développement et la perte de matière sèche selon la méthode d'Adams et Schulten (1978).

Ensuite, nous avons cherché l'effet de certaines substances nutritionnelles sur le développement et la descendance moyenne par femelle. Pour cela, les analyses biochimiques des protéines, des lipides, de la cellulose et du carbone dans les grains de céréales ont été effectuées (Godon et Loisel, 1984). Le traitement des données a été effectué par le logiciel Genstat 11^{ème} Ed, V 2008.

3.1.3. Résultats et discussion

3.1.3.1. Descendance moyenne viable par femelle

- **Influence de l'espèce végétale sur la descendance des 2 espèces.**

Nous avons utilisé ce critère pour l'estimation de la susceptibilité des différentes céréales à l'attaque par les deux espèces étudiées. Il est clair d'après le tableau 9 que la descendance moyenne des deux espèces est significativement influencée par le type de céréale. Le nombre d'adulte émergés par jour varie pour *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. de 0,61 et 0,12 en population mono spécifique sur le Maïs, à 4,35 et 5,81 respectivement sur le blé tendre.

Une observation est remarquable, le grain d'orge vêtu de ses enveloppes cellulosiques est défavorable au charançon. Par contre elle ne semble pas être un inconvénient pour *Rhyzopertha dominica* F. C'est l'inverse, qui se produit sur le riz mais c'est aussi la céréale la plus pauvre en matière azotée. C'est résultats sont en corrélation avec les travaux de Faroni et Garcia-Maria (1992), qui on noté que la durée de l'embryogénèse, les stades larvaires, nymphales et le nombre d'œufs pondus varient en fonction des conditions de températures, d'humidité relatives et de la nature des céréales.

Le test de discrimination et de classement de Friedman, permet de mettre en évidence des différences significatives au seuil de 5% d'erreur entre les céréales pour les deux espèces d'insectes ($X^2=14,61$ pour *Rhyzopertha dominica* F. et $X^2=12,33$ pour *Sitophilus granarius* L.).

Pour *Rhyzopertha dominica* F., la descendance moyenne par femelle et par jour avec les différentes céréales qui peuvent être classées par le test de Kramer en 2 groupes au seuil de 5% d'erreur (Genstat 11^{ème} Edition V8) :

- Le groupe représenté par le Maïs dont la descendance moyenne par femelle et par jour varie de 0,08 à 0,16
- Le groupe constitué par le blé dur, le blé tendre, l'orge et le riz dont la descendance moyenne par femelle et par jour est comprise entre 1,3 et 5,8

Pour *Sitophilus granarius* L., le même test nous permet de former trois groupes de céréales selon le nombre d'insectes émergés :

- Le Maïs avec lequel la descendance moyenne viable varie de 0,37 à 0,61
- Le groupe formé par le blé dur, l'orge et le riz où la descendance moyenne viable varie de 2,3 à 3,9
- Le blé tendre où la descendance moyenne viable est supérieure à 3,9

Les seuils de signification des différences ($p=0,05$) entre céréales proposées en comparaison avec la céréale de référence le Maïs, montrent des différences non significatives entre *Sitophilus granarius* L. et le blé dur, l'orge, le riz ; mais pour le blé tendre, nous constatons une différence hautement significative. Cette dernière s'observe également entre *Rhyzopertha dominica* F. et l'orge ; par contre la différence est significative pour le blé dur et non pour le blé tendre et le riz.

▪ **Influence de la coexistence de *S.granarius* et *R. dominica*.**

Le tableau 9 indique que la sensibilité des différents types de céréales aux attaques par *Rhyzopertha dominica* F. augmente en présence de *Sitophilus granarius* L. pour un taux initial d'infestation de deux couples de *Sitophilus granarius* L. et deux couples de *Rhyzopertha dominica* F. par 80g. L'inverse est observé si le taux d'infestation est doublé. Par contre, la descendance moyenne de *Sitophilus granarius* L. n'est pas significativement affectée par la présence de *Rhyzopertha dominica* F.

Tableau 9. Descendance moyenne viable par femelle et par jour selon le type de céréale à 30°C et 14% de teneur en eau.

Céréales	Populations Monospécifique		Populations Hétérospécifique			
	<i>S.granarius</i> (4 couples)	<i>R.dominica</i> (4 couples)	<i>S.granarius</i> + <i>R.dominica</i> (2 couples + 2 couples)		<i>S.granarius</i> + <i>R.dominica</i> (4 couples + 4 couples)	
Blé dur	3.71	3.02	2.40	4.08	2.25	2.20
Blé tendre	4.35	5.81	4.47	5.24	3.89	4.02
Orge	2.36	5.29	3.09	8.06	2.35	4.81
Maïs	0.61	0.12	0.43	0.16	0.37	0.08
Riz	3.86	1.89	2.45	1.86	3.06	1.30

Weston et Rattingourd (2000), ont montré que l'infestation du Maïs par *Sitotroga cerealella* O. influe sur les descendance de deux ravageurs secondaires du grain, *Tribolium castaneum* H. et *Oryzaephilus surinamensis* L. qui atteignent les plus grands nombres.

Les analyses statistiques par le test de Friedman appuient cette observation ($X^2=9,33$). Il apparaît donc que l'interaction entre ces deux espèces est favorable pour *Rhyzopertha dominica* F. à une densité d'un insecte par 10g. Dans ces conditions, il semble que les trous d'alimentation des adultes de *Sitophilus granarius* L. facilitent la pénétration de la larve du premier stade et éventuellement du deuxième stade de *Rhyzopertha dominica* F. à l'intérieur du grain.

Les seuils de significations des différences ($p=0,05$) de l'interaction entre les populations monospécifiques et hétérospécifiques de *Sitophilus granarius* L. et de *Rhyzopertha dominica* F. montrent une différence non significative entre le capucin des grains et une population de 4 couples et 2 couples ; par contre la différence est hautement significative entre le charançon des grains et une population de 4 couples.

Ainsi, la mortalité larvaire pourrait être considérablement réduite. La diminution du nombre d'adultes émergés avec un taux d'infestation double peut être expliquée par une compétition entre les femelles des deux espèces pour la recherche du site de ponte et une augmentation de la mortalité larvaire consécutive. Dans le même sens, Giga et Canhao (1993)

ont montré les effets de la compétition intraspécifique et interspécifique entre *Prostephanus truncatus* H. et *Sitophilus zeamais* M. sur le Maïs à 25 et 30°C et les courbes de reproduction ont été différentes dans la forme. Les deux espèces ont été affectées par les interactions de la concurrence.

Aussi, Danho *et al.* (2000), ont confirmé qu'il y avait une réelle concurrence entre le grand capucin du grain et le charançon du maïs. Ces résultats ont montré que *Prostephanus truncatus* H. endommage au hasard les grains infestés et non infestés. Par conséquent, l'effet dissuasif de *Sitophilus zeamais* M. contre *Prostephanus truncatus* H. a été également associé à l'existence de substances déposées sur la surface des grains par les charançons adultes.

3.1.3.2. Durée moyenne de développement

L'analyse du tableau 10 révèle que la durée moyenne de développement varie selon le type de céréale. La durée de développement la plus longue est observée sur le Maïs avec 40 et 45 jours pour *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F., respectivement. La durée la plus courte est enregistrée sur le riz avec 28 et 42 jours pour les deux espèces.

Selon Trematerra *et al.* (1999), les grains de céréales affectent le comportement de *Sitophilus oryzae* L. et ils ont expliqué qu'ils sont attractifs de différentes manières ; une fois décortiquées naturellement ou artificiellement elles libèrent des substances volatiles.

Ainsi, dans l'ordre croissant d'attraction sont: la partie du germe, l'endosperme sans le germe et le noyau des couches du péricarpe. Récemment, Giacinto *et al.* (2008) ont montré que les antennes des adultes de *Sitophilus granarius* L. détectent le mélange d'odeur aromatiques de céréales diverses tels que les alcools aliphatiques, aldéhydes, cétones et hydrocarbures.

Tableau 10. Durée moyenne de développement en jours de *Sitophilus granarius* L. et de *Rhyzopertha dominica* F. selon le type de céréale.

Céréales	Populations					
	Monospécifique		Hétérosécifique			
	<i>S.granarius</i> (4 couples)	<i>R.dominica</i> (4 couples)	<i>S.granarius</i> + <i>R.dominica</i> (2 couples + 2 couples)		<i>S.granarius</i> + <i>R.dominica</i> (4 couples + 4 couples)	
Blé dur	30.1	44.3	30.80	44.5	29.30	45.6
Blé tendre	35.3	49.2	35.00	49.5	36.25	49.7
Orge	31.2	47.0	34.30	48.6	31.70	46.4
Maïs	40.4	55.1	40.50	57.5	40.50	55.6
Riz	27.9	42.2	28.63	43.6	28.10	42.7

Les analyses statistiques par le test de Friedman ont donnés des résultats significatifs entre les durées de développement observées sur les cinq céréales testées ($X^2 = 14,61$; $X^2_{0.05} = 12,59$ pour *Sitophilus granarius* L. et $X^2 = 13,09$; $X^2_{0.05} = 12,59$ pour *Rhyzopertha dominica* F.). L'analyse des différences significatives par le test de Kramer nous permet de distinguer au seuil d'erreur de 5%, trois groupes de céréales pour le charançon du grain et seulement deux groupes pour le capucin des grains :

- Pour *Sitophilus granarius* L : Premier groupe (riz); deuxième groupe (blé tendre, orge et blé dur); troisième groupe (maïs).
- Pour *Rhyzopertha dominica* F : Premier groupe (riz, blé tendre, orge et blé dur) ; deuxième groupe (maïs).

En outre, les seuils de significations des différences à ($p = 0,05$) enregistrées pour la durée moyenne de développement, lorsque *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. sont nourris à partir de différentes céréales en comparaison avec la céréale de référence le riz, montrent des différences non significatives entre le capucin des grains et le blé dur, le blé tendre, l'orge. Ils montrent également des différences non significatives entre le charançon et les mêmes espèces de céréales; par contre on observe des différences hautement significatives entre les deux espèces de ravageurs et le Maïs.

Ces résultats révèlent que le classement de la durée moyenne de développement est sensiblement la même quelque soit l'espèce. De ce fait, nous avons cherché l'effet de certaines substances nutritionnelles sur le développement et la descendance moyenne par femelle.

Selon Silhacek et Murphy (2006), le taux de croissance de la pyrale de la farine, *Plodia interpunctella* H. est très variable sur différents produits céréaliers, indiquant des différences dans la disponibilité des nutriments pour les insectes. Pour cela, les analyses biochimiques dans les grains de céréales ont été effectuées (tableau 11). Des combinaisons possibles deux à deux de la teneur en certains nutriments ont été analysées par la méthode des corrélations multiples.

Tableau 11. Analyse de la composition des différents types de céréales (teneur en g/100g)

Céréales	Blé tendre	Blé dur	Maïs	Orge	Riz
Compositions					
Protéines	12.80	15.53	12.22	12.87	8.97
Cellulose	2.90	2.70	3.00	6.10	1.70
Carbone	43.55	43.22	45.76	43.73	43.61
Lipides	1.70	2.10	4.50	1.90	2.20

Par conséquent, il s'est avéré que deux substances agissent significativement sur les performances biotiques des deux espèces, à savoir Les lipides et la cellulose. L'influence simultanée des deux facteurs sur la durée de développement se traduit par les deux courbes significatives d'équations:

$$Z_1 = 3,71 x + 1,02 y + 34,72$$

$$Z_2 = 3,53 x + 0,68 y + 21,57$$

Pour lesquelles Z_1 et Z_2 sont les durées de développement de *Rhyzopertha dominica* F. et *Sitophilus granarius* L. respectivement, exprimées en jour ; x et y étant la teneur en lipide et en cellulose respectivement (coefficient de corrélation $r^2 = 0,75$ pour *Rhyzopertha dominica* F. et $r^2 = 0,66$ pour *Sitophilus granarius* L. acceptable au seuil d'erreur de 1%). Il est clair d'après les deux équations que plus la teneur en lipide n'est élevée, plus la durée du

cycle de développement n'est longue. Il semble que l'effet lipide est sensiblement le même pour les deux espèces (coefficients 3,71 et 3,53). Il faut souligner que si la teneur en cellulose agit dans le même sens pour les deux espèces en augmentant leur durée de développement, son action sur la descendance viable par femelle est la même en valeur absolue (le même coefficient) mais avec un signe contraire. Les deux équations qui traduisent ce phénomène sont :

$$Z_1 = 5,30 - 1,30 x + 0,42 y, \text{ pour } Rhyzopertha \text{ dominica F.}$$

$$Z_2 = 7,41 - 1,18 x - 0,46 y, \text{ pour } Sitophilus \text{ granarius L.}$$

Pour lesquelles Z_1 et Z_2 représentent les durées de développement de *Rhyzopertha dominica* F. et *Sitophilus granarius* L. respectivement, exprimées en jour ; x et y étant la teneur en lipide et en cellulose respectivement (coefficient de corrélation $r^2 = 0,59$ pour *Rhyzopertha dominica* F. et $r^2 = 0,92$ pour *Sitophilus granarius* L. au seuil d'erreur de 1%).

En outre, l'augmentation de la teneur en cellulose se traduit par une augmentation de la descendance viable de *Rhyzopertha dominica* F. et une diminution de la descendance viable de *Sitophilus granarius* L. Cette observation va dans la même analyse qu'Anan et Pant (1980), qui attestent que le capucin des grains peut bénéficier de l'action favorable de symbiontes du tube digestif qui est une action reconnue sur l'assimilation de la cellulose (caractère des Bostrichidae).

Chez le charançon des grains, dont les larves peuvent être nourries exclusivement avec du gluten et de l'amidon complétement en vitamines et en sels minéraux, la digestion de la cellulose n'est pas possible. L'effet dépressif sur le nombre moyen de descendants des graines à forte teneur en cellulose (orge et riz) n'est donc pas dû au hasard. Pour les lipides, l'effet dépressif existe généralement pour de nombreuses espèces d'insectes des denrées.

Dans le cas présent, le Maïs qui est la graine la plus riche en lipides et aussi celle qui donne la plus faible multiplication. Le même résultat a été observé avec *Trogoderma granarium* E. sur le blé, le maïs et le sorgho (Jood *et al.*, 1996).

Plusieurs chercheurs, dont Nawrot *et al.* (1995), ont expliqué que les lipides oxydés dans les noyaux des grains deviennent au fil du temps volatiles et, peuvent donc influencer le mouvement des insectes ravageurs vers ou loin du grain.

Autres résultats obtenus pour évaluer la sensibilité des variétés de blé au capucin des grains ; Batta *et al.* (2007), suggèrent que la résistance de ces variétés peuvent être attribué à la faible teneur en protéine et une teneur élevée en glucides par rapport aux variétés sensibles ; par contre Matthew *et al.* (1990) ; Matthew *et al.* (2006) ont montré que c'est d'ordre génétique entre les différentes variétés.

3.1.3.3. Perte de matière sèche

L'analyse du tableau 12, montre que la perte de matière sèche par les deux espèces d'insectes dépend de la céréale infestée. La perte la plus élevée est observée sur le blé dur pour les deux insectes avec 4,74 et 6,09 % pour *Sitophilus granarius* L. et *Rhyzopertha dominica* F. respectivement. Le Maïs est la céréale la moins endommagée, la perte de matière sèche enregistrée est de moins de 1% avec les deux espèces.

Tableau 12. Perte de matière sèche (%) induite par le développement de la descendance moyenne de *Sitophilus granarius* L. et de *Rhyzopertha dominica* F.

Céréales	Populations			
	Monospécifique		Hétérosécifique	
	<i>S.granarius</i> (4 couples)	<i>R.dominica</i> (4 couples)	<i>S.granarius</i> + <i>R.dominica</i> (2 couples + 2 couples)	<i>S.granarius</i> + <i>R.dominica</i> (4 couples + 4 couples)
Blé tendre	4.74	6.09	4.45	4.01
Maïs	0.96	0.26	0.34	0.40
Orge	2.63	3.97	5.34	2.95
Blé dur	3.72	1.95	3.27	2.40
Riz	3.76	2.31	2.59	1.98

Ces observations vont dans le même sens que les résultats observés avec la descendance moyenne sur les différentes céréales et confirment la bonne corrélation entre le taux de multiplication et la perte enregistrée (Bekon et Fleurat-Lessard, 1992).

Aussi, les résultats de Barney *et al.*, (1991) ont montré que lorsque les conditions abiotiques ont été favorables à la ponte, au développement larvaire et à l'émergence des

adultes de *Sitophilus zeamais* M., la teneur en cendre, lipide et protéine des grains a été augmenté comme cela été pour la perte de poids du grain.

3.1.4. Conclusion

La gestion des populations d'insectes qui infestaient les céréales stockées est aujourd'hui un plus grand défi, que par le passé parce que l'utilisation des pesticides deviennent plus restreinte.

Pour une meilleure approche du contrôle, cette étude a révélée, que tous les grains entreposés présentent le phénomène de préférence / non préférence pour les grains de différentes céréales. Ce phénomène est dû à la structure et à la composition des céréales telles que l'amidon, protéine, glucide, enzyme (Everts *et al.*, 1999), d'une part et, d'autre part, elle apporte de nouveaux éléments sur leur sensibilités / résistances aux deux espèces nuisibles des grains stockés en zone semi-aride de Sétif, Algérie.

Dans ce contexte, l'information disponible sur le mécanisme de résistance aux ravageurs des céréales est discutée par Chandrashekar et Satyanarayana (2006) et notent que la résistance du sorgho aux insectes est due à la composition chimique et physique du grain.

Ainsi, les composés phénoliques tels que l'acide ferulique et les tannins sont de puissants inhibiteurs des insectes. En outre, la dureté du grain est un obstacle majeur à l'infestation. Les prolamines, constituent une barrière physique, car ils sont résistants à la digestion par les insectes.

En outre, une compréhension des mécanismes naturels de résistance dans le grain est primordiale pour le développement d'une résistance durable contre les ravageurs.

3.2. Evaluation de la sensibilité de 12 variétés de blé tendre (*Triticum aestivum* Desf.) au *Sitophilus granarius* L.(Coleoptera:Curculionidae).

3.2.1. Objectif

L'objectif de cette étude est d'évaluer la sensibilité des variétés de blé tendre vis-à-vis du charançon du grain en condition de stockage.

3.2.2. Matériels et Méthodes

3.2.2.1. Matériel végétal

La présente étude a été réalisée sur des variétés de blé tendre stérilisé: Aïn Abid, Arz, Siete Ceros, Arfort, Anza, Orion, Mahon Demias, Marchouche, Sleab, Hidhab, Porengo et Binova. Ces variétés proviennent du programme blé tendre, entre la Station Expérimentale Agricole de l'Institut de Grandes Cultures (ITGC) de Sétif (Algérie) et le Centre International de Recherches Agricoles dans les Zones Arides (ICARDA) d'Alep (Syrie).

3.2.2.2. Matériel animal

Les adultes de *Sitophilus granarius* L., ont été prélevés à partir d'un élevage de masse dans une étuve sous conditions expérimentales de température à $27 \pm 2^\circ\text{C}$ et $70 \pm 5\%$ d'humidité relative.

3.2.2.3. Paramètres biologiques de *S.granarius* et technologiques du blé

Dans chaque boîte, 5 couples de *Sitophilus granarius* L. ont été mis sur 100 grammes de grains de blé tendre de chaque variété, pour étudier pendant une seule génération, les paramètres biologiques de fécondité et d'indice de croissance de l'insecte d'une part et, d'autre part, les paramètres physiques de poids de mille grains et de teneur en eau du grain; les paramètres chimiques de teneur en protéine et de glucide du grain d'après les méthodes décrites précédemment au deuxième chapitre. Ces boîtes sont recouvertes de moustiquaires, permettant l'aération des insectes, sous les mêmes conditions d'élevage. Le nombre de répétition étant de trois.

Pour mieux apprécier la fécondité, nous avons compté le nombre d'œufs pondus après 15 jours. Il est toutefois possible de repérer les grains dans lesquels les insectes ont pondu par

immersion dans une solution d'acide fuschinique à 0,5 g/l. La méthode utilisée a été adaptée de celle décrite par Holloway (1985) in : Danho *et al.* (2000). Les grains ont été d'abord humidifiés par trempage dans un bain d'eau tiède (25-30°C). Ensuite, ceux-ci ont été immergés pendant 1-2 minutes dans la solution de fuschine (Annexe) qui colore les bouchons mucilagineux en rouge cerise. Après rinçage des grains à l'eau pour éliminer l'excès de colorant. Le dénombrement des œufs déposés dans chaque grain a été effectué par observation directe au microscope binoculaire.

L'observation de la période de développement larvaire / totale et l'émergence des adultes est suivie régulièrement. L'indice de croissance a été calculé pour évaluer le niveau de sensibilité de ces variétés par l'étude de la méthode d'antibiose des variétés de blé (Sarin et Sharma, 1983):

$$\text{Indice de Croissance} = N / D$$

Où

N: Les larves qui deviennent adultes (%).

D: La durée de développement totale.

La perte de poids (%) à été déterminé depuis la mise en place des insectes avec les grains de blé tendre de chaque variété jusqu'à l'émergence des adultes de la génération F1. Elle est calculée selon la méthode de (Pointel, 1980) :

$$PP (\%) = Ps - Pa$$

Où

Ps = Les grains sains avant infestation.

Pa = Les grains attaqués après infestation.

Les traitements des données statistiques sont effectués par le logiciel XLSTAT V7 pour l'analyse de la matrice de corrélation, l'analyse en composante principale et le dendrogramme.

3.2.3. Résultats et discussion

Les résultats ont montré des différences significatives entre les différents indices de croissance de *Sitophilus granarius* L. sur les douze variétés de blé tendre. Il a été

comparativement plus élevé chez la variété Siete Ceros avec 3,27 suivie par Mahon Demias, Hidhab, Arfor, Marchouche, Anza, Orion, Sleab, Aïn Abid, Porengo, Binova avec des valeurs comprises entre 2,97 et 1,42 et enfin, plus faible chez la variété Arz avec 1.39 (tableau 13).

Selon Silhacek et Murphy (2006), le taux de croissance de *Plodia interpunctella* sur les différents produits de céréales est variable suite à des différences de disponibilité des nutriments pour les insectes.

Un comportement presque similaire a été exposé par ces variétés sur la base du nombre d'œufs pondus. Ces résultats sont en corrélation avec les travaux de Faroni et Garcia-Maria (1992), qui ont noté que la durée de l'embryogenèse, les stades larvaires, nymphals et le nombre d'œufs pondus varie en fonction des conditions de température, l'humidité relative et la nature des céréales.

Ainsi, on peut conclure que les variétés dont la période de développement des larves est plus courte, ont été plus sensibles. Selon Trematerra *et al.* (1999), les grains de céréales influe sur le comportement de *Sitophilus oryzae* L. et a expliqué qu'elles sont attractives de différentes manières en libérant des substances volatiles une fois décortiquées naturellement ou cassés.

Récemment, Giacinto *et al.* (2008), ont montré que les antennes des adultes de *Sitophilus granarius* L., détectent une grande variété de composés telles que les alcools aliphatiques, aldéhydes, cétones et d'aromes mélangés avec l'odeur de divers grains de céréales.

Autres résultats obtenus pour évaluer la sensibilité des variétés de blé à *Rhizopertha dominica* F. Matthew *et al.* (2006), ont montré que c'est d'ordre génétique entre les différentes variétés de blé ; Batta *et al.* (2007), suggèrent que la résistance de ces variétés peut être attribuer à la faible teneur en protéines et une teneur élevée en glucides, comparativement aux variétés sensibles. Ceci est en corrélation avec nos résultats où la variété Arz semble être la plus résistante au *Sitophilus granarius* L. et présente une teneur en protéine et en glucide de l'ordre de 9,27% et 73,70% respectivement.

De plus, ces tests ont montré que la variété Siete Ceros a été la plus sensible à *Sitophilus granarius* L. sur la base de la perte de poids et de l'indice de croissance qui sont respectivement de 3,27% et 2,08. Ces observations corroborent avec les résultats obtenus de

la descendance moyenne de *Sitophilus oryzae* L. et *Tribolium castaneum* Herbst. sur différentes céréales et de confirmer la bonne corrélation entre le taux de multiplication et la perte enregistrée (Bekon et Fleurat-Lessard, 1992).

Tableau 13. Les paramètres biologiques de *Sitophilus granarius* L et technologiques des variétés de blé tendre.

Paramètres	Fécondité (nbres)	Indice Croissance	Perte Poids (%)	PMG (g)	Compositions du grain (%)		
					Humidité du grain	Protéine	Glucide
Variétés							
Aïn Abid	66.82	1.14	2.1	38.32	12.33	10.15	70.98
Arz	23.35	0.69	1.39	41.50	12.35	9.27	73.70
Siete Ceros	196.12	2.08	3.27	43.43	12.02	16.63	68.06
Arfort	135.77	1.71	2.67	46.21	12.13	15.65	68.12
Anza	89.37	1.51	2.43	43.04	12.05	11.60	71.60
Orion	63.37	1.06	1.67	45.99	11.88	10.35	72.25
M.Demias	166.80	2.04	2.97	42.92	12.06	15.83	68.17
Marchouche	102.60	1.70	2.50	44.80	12.05	10.12	73.46
Sleab	77.27	1.44	2.27	45.15	12.13	11.53	70.75
Hidhab	141.0	1.94	2.67	34.97	11.89	15.62	68.25
Porencó	45.50	0.73	1.40	35.76	11.81	10.30	73.25
Binova	40.97	0.70	1.42	35.42	11.80	9.82	73.53

Aussi, les résultats de Barney *et al.* (1991), ont montré que lorsque les conditions abiotiques sont favorables pour l'oviposition, le développement larvaire et l'émergence de la descendance de *Sitophilus zeamais* M.; par contre, les cendres, les lipides et la teneur en protéines des grains vont augmenté par rapport à la perte de poids du grain.

Par conséquent, ces résultats sont conformes aux études précédentes et on peut en conclure que chaque variété se comporte différemment aux ravageurs des céréales stockées.

Cependant, cet aspect doit être pris en considération dans l'amélioration des Programmes. Ainsi, Khattak et Shafique (1986) ont évalués des variétés de blé respectivement contre *Tribolium castaneum* H. et *Sitophilus granarius* L. ; Sharma (2000), Saljoqi *et al.* (2002), Laskar et Ghosh (2004) et Sharma *et al.* (2005) , contre *Sitophilus*

oryzae L. ; mais les variétés utilisées étaient différentes de celles testées dans le cadre de ces présentes études.

Pour mieux évaluer les résultats obtenus, une analyse de la matrice de corrélation entre les paramètres physiques et technologiques des variétés de blé tendre et les paramètres biologiques de *Sitophilus granarius* L a été effectuée. D'après la matrice de corrélation (tableau 14), nous retiendrons les variables les plus significatives au seuil d'erreur de 5%.

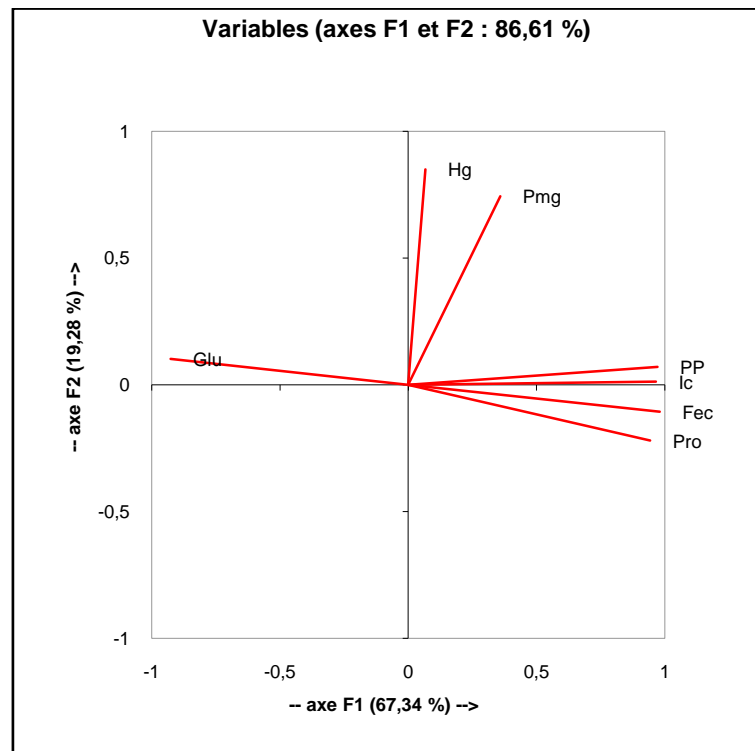
Tableau 14. La matrice de corrélation.

Variables	Fec	Ic	PP	Pmg	Hg	Pro	Glu
Fec	1						
Ic	0,949	1					
PP	0,957	0,981	1				
Pmg	0,282	0,364	0,374	1			
Hg	-0,038	0,042	0,127	0,367	1		
Pro	0,935	0,851	0,852	0,158	-0,081	1	
Glu	-0,877	-0,827	-0,840	-0,180	-0,073	-0,953	1

Fec: Fécondité; **Ic:** Indice de croissance; **PP:** Perte de poids; **Pmg:** Poids de mille grains; **Hg:** Humidité du grain; **Pro:** Protéine; **Glu:** Glucide.

On remarque qu'il y a une corrélation significative positive entre les différents paramètres de fécondité, d'indice de croissance, la perte de poids et la teneur en protéine et une corrélation significative négative avec la teneur en amidon. Par contre le poids de mille grains et l'humidité du grain sont indépendants sur l'évolution des autres paramètres.

L'analyse en composantes principales de la distribution des variables sur les données relatives à la biologie de l'insecte et à la qualité des douze variétés de blé tendre, a permis de dégager deux grands axes factoriels qui expliquent 86,61 % de la variabilité totale (figure 6).

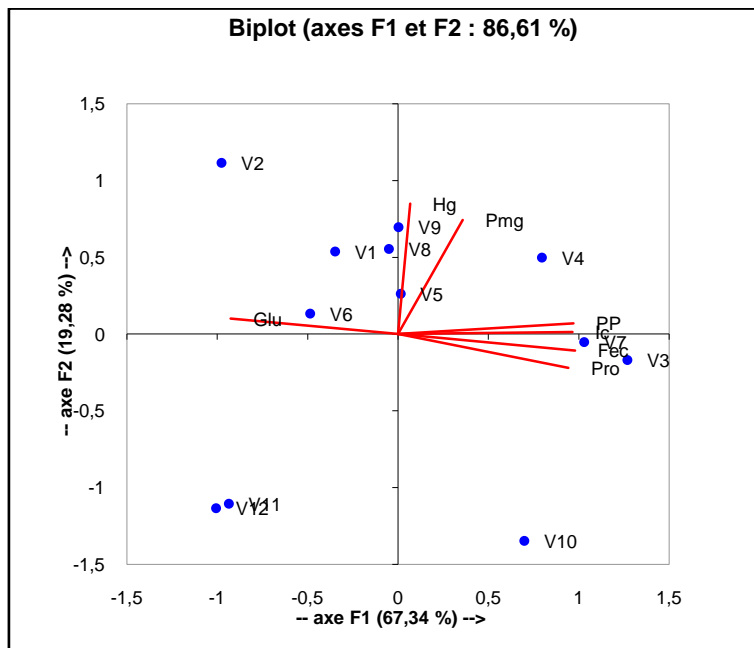


Fec: Fécondité; **Ic:** Indice de croissance; **PP:** Perte de poids; **Pmg:** Poids de mille grains; **Hg:** Humidité du grain; **Pro:** Protéine; **Glu:** Glucide.

Figure 6. Analyse en composante principale de la distribution des paramètres sur les axes factoriels.

- Axe 1 : Il représente l'axe de fécondité, de perte de poids, d'indice de croissance de protéine et de glucide et, explique à lui seul 67,34 % de la variabilité totale.
- Axe 2 : Il représente l'axe de l'humidité du grain et le poids de mille grains et, explique à lui seul 19,28 % de la variabilité totale.

De plus, la figure 7, montre clairement que l'axe F1 est en relation positive avec la fécondité, la perte de poids, l'indice de croissance, la teneur en protéine et les variétés Siete Ceros et Mahon Demias et est négativement avec la teneur en glucide et la variété Orion. Par contre l'axe F2 est en relation positive avec l'humidité du grain, le poids de mille grains et les variétés Sleab, Anza et Marchouche.



Fec: Fécondité; **Ic:** Indice de croissance; **PP:** Perte de poids; **Pmg:** Poids de mille grains; **Hg:** Humidité du grain; **Pro:** Protéine; **Glu:** Glucide.

Figure 7. Analyse en composante principale de la distribution des paramètres et des variétés.

En outre, la classification ascendante hiérarchique de la description du dendrogramme (figure 8), a identifiée 03 groupes de variétés.

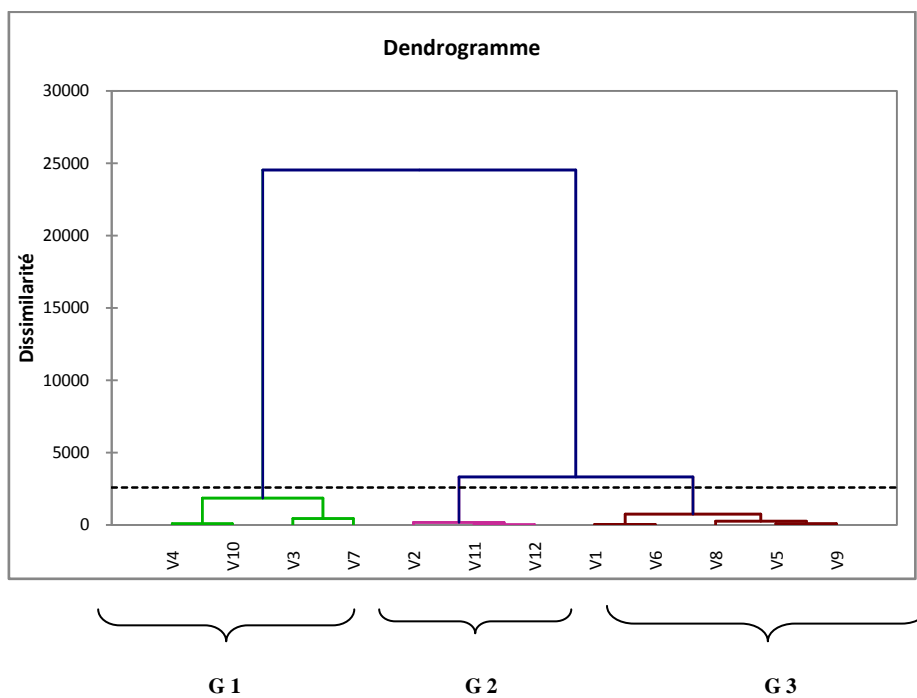
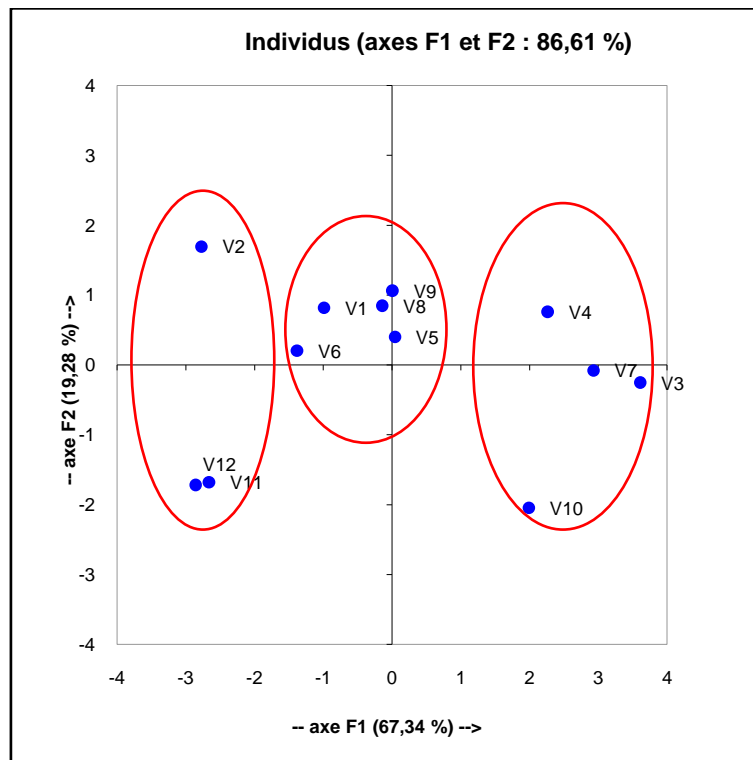


Figure 8. Classification ascendante hiérarchique de la description du dendrogramme.

Ainsi, les trois groupes de variétés, sont répartis sur les deux axes F1 et F2 (figure 9). On remarque que le groupe 1 est composé des variétés (Arfort, Hidhab, Siete Ceros et Mahon Demias) ; le groupe 2 des variétés (Arz, Porenco et Binova) et enfin le groupe 3 des variétés (Aïn Abid, Orion, Marchouche, Anza et Sleab).



V1: Aïn Abid; V2: Arz; V3: Siete Ceros; V4: Arfort; V5: Anza; V6: Orion; V7: Mahon Demias; V8: Marchouche; V9: Sleab; V10: Hidhab; V11: Porenco; V12: Binova.

Figure 9. Analyse en composantes principales la répartition des variables sur les principaux facteurs.

Les caractéristiques de ces groupes sont mentionnées dans le tableau 15.

- Le groupe 1, est caractérisé par une fécondité de $159,92 \pm 27,68$ œufs ; un indice de croissance de $1,94 \pm 0,16$; une perte de poids $2,89 \pm 0,29$ %, une teneur en protéine de $15,93 \pm 0,47$ % et d'une période de développement de $41,56 \pm 1,16$ jours. Ainsi, ce groupe renferme les variétés sensibles qui sont, Siete ceros, Arfort, Mahon demias et Hidhab.

Tableau 15. Description des groupes de variétés de blé tendre

Paramètres	Fécondité (Nbres)	Indice de croissance	Perte Poids (%)	PMG (g)	Humidité du grain (%)	Protéine (%)	Glucide (%)
Groupes							
G1	159.92±27.68	1.94±0.16	2.89±0.29	41.85±4.80	12.02±0.1	15.93±0.47	68.15±0.08
G2	38.27±8.89	0.71±0.02	1.40±0.01	37.56±3.42	11.99±0.31	9.80±0.51	73.49±0.23
G3	79.89±16.25	1.37±0.26	2.19±0.33	43.46±3.07	12.08±0.15	10.75±0.75	71.81±1.09

- Le groupe 2, est marqué par une fécondité de $38,27 \pm 8,89$ œufs ; un indice de croissance de $0,71 \pm 0,02$; une perte de poids de $1,40 \pm 0,01$ %; une teneur en protéine de $9,80 \pm 0,51$ %, une teneur en glucide de $73,49 \pm 0,23$ % et une durée de développement de $43,61 \pm 1,54$ jours. De ce fait, il englobe les variétés résistantes, à savoir Arz, Porencos et Binova.

- Le groupe 3, se distingue par un poids de mille grains de $43,46 \pm 3,07$ g; une humidité du grain de $12,08 \pm 0,15$ % et une teneur en glucide de $71,81 \pm 1,09$ %. Il réunit les variétés Aïn Abid, Orion, Anza, Marchouche et Sleab qui sont du type moyennement sensible.

A partir de cela, nous pouvons déduire que la présence de constituants biochimiques chez les douze variétés de blé tendre, permettra de prévenir le développement de ce ravageur et, en présence ou non de la substance (s) agissant sur les facteurs à la fois comme répulsifs et inhibiteurs biochimiques. Ces résultats impliquent que les gestionnaires des grains entreposés doivent être conscients des différences de sensibilité des variétés de blé à l'infestation au *Sitophilus granarius* L.

3.2.4. Conclusion

Pour une meilleure approche de contrôle de ce ravageur, cette étude a révélé que tous les grains entreposés présentent le phénomène de préférence / non préférence pour les grains de différentes variétés. Ce phénomène est dû à la structure et à la composition du blé tendre comme, l'amidon, les glucides et les enzymes (Everts *et al.*, 1999) ; les protéines (Gupta *et al.*, 2000). De plus, elle apporte de nouveaux éléments sur la sensibilité / résistance à l'espèce nuisible aux grains stockés dans la zone semi-aride de Sétif, Algérie.

Il semble que la sensibilité aux attaques de *Sitophilus granarius* L. touche les variétés Arfort, Hidhab, Sieté Ceros et Mahon Demias), tandis que les variétés résistantes sont Arz, Porencos et Binova. Toutefois, en plus des protéines alimentaires, il existe naturellement dans le maïs, une substance de nature protéique inhibant l'action des protéases des insectes (Piasecka *et al.*, 2005).

En somme, il serait souhaitable de procéder à une analyse technique, de l'étude de la modulation de la nourriture, par l'activité des enzymes purifiées à partir de l'insecte et, par des inhibiteurs naturels dans les grains de céréales. Ceci, permet d'identifier dans un premier temps, les aliments préférés et l'agent responsable dans le développement de ces granivores et, dans un deuxième temps, visant à créer des variétés de blé tendre résistantes.

Chapitre IV. Contrôle de *Sitophilus granarius* L.

4.1. Efficacité de la protéine du pois et les homologues de PA1b des graines de légumineuses sur *Sitophilus granarius* L.

4.1.1. Objectif

L'objectif de cette étude est la mise en évidence de la toxicité de la protéine du pois et les homologues de PA1b chez les graines de légumineuses vis-à-vis du charançon du grain.

4.1.2. Matériels et méthodes

4.1.2.1. Matériel animal

Les souches de *Sitophilus granarius* L. proviennent des cellules de stockage de la région d'étude. Elles sont élevées dans une enceinte ventilée où la température est maintenue à $27 \pm 0.2^\circ\text{C}$ et à $70 \pm 5\%$ hr à l'obscurité (Laviolette et Nardon, 1963).

4.1.2.2. Matériel végétal

Les graines de blé tendre (*Triticum aestivum* Desf. var Siete Ceros) et des espèces de légumineuses, du pois cassés (*Pisum sativum* L. var Languedoc), du Pois chiche (*Cicer arietinum* L. var Kabuli), du haricot (*Phaseolus vulgaris* L. var Bordj Ménail), de la lentille (*Lens esculenta* M. var Larissa) et de la fève (*Vicia fabae* L. var Sidi Moussa 178/25). Ces variétés proviennent des différentes stations de l'Institut Technique des Grandes Cultures d'Algérie (tableau 16).

Des boîtes en plastique rondes de 11 cm de diamètre sur 8 cm de hauteur sont remplies aux $\frac{3}{4}$ avec des graines. Les couvercles et les fonds des boîtes sont grillagés. Ces graines sont d'abord mises dans des boîtes fermées à -20°C pendant quelques jours afin de détruire d'éventuels insectes pouvant s'y trouver. Ils sont ensuite conservés à $+4^\circ\text{C}$ jusqu'à utilisation.

Tableau 16. Espèces de légumineuses testées

Noms communs	Noms scientifiques	Origines
Pois cassé	<i>Pisum sativum L.</i>	Alger (Oued Smar- El Harrach)
Lentille	<i>Lens esculenta M.</i>	Tiaret
Haricot flageolet	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	Alger (Oued Smar- El Harrach)
Fève aquadulce	<i>Vicia fabae L.</i>	Sidi Bel Abbes
Pois chiche	<i>Cicer arietinum L.</i>	Guelma

▪ Préparation de la farine

Les graines de pois sont broyées finement dans un moulin puis tamisées sur un tamis AFNOR NF X 11-201 Prolabo de 0,2 mm d'ouverture de maille. Le broyage est poursuivi de manière à avoir le minimum de farine non tamisable. La farine verte ainsi obtenue est utilisée pour les extractions et la préparation des boulettes enrichies en farine de pois. Le même procédé est utilisé pour la préparation de la farine de blé et des autres légumineuses.

▪ Extraction de PA1b

L'extraction de la protéine du pois (PA1b), a été réalisée au laboratoire mixte INRA–INSA de France et comporte deux étapes :

- Extraction au méthanol 60% (MeoH60)

Elle consiste à peser 100 g de farine et ajouter 500 ml de méthanol 60%. Ensuite, on agite à 4°C pendant au moins 2 heures, puis on centrifuge à 4°C/10000g /10 à 20 mn. On récupère le surnageant dans un ballon et on évapore au Buchi le maximum de liquide sans arriver à sec. Le contenu du ballon est transvasé dans un flacon adapté à la lyophilisation. Une fois l'opération terminée, on rince le ballon avec un peu de méthanol 60% et on récupère. Après, on évapore au Buchi le méthanol et on ajoute un peu d'eau pour bien solubiliser l'extrait sans dépasser 50 ml. Subséquemment, on congèle à -80°, on lyophilise et on pèse.

- *Précipitation acétonique*

Elle consiste à reprendre l'extrait méthanol avec de l'eau ultrapure. On mesure le volume et on ajoute l'acétone glaciale afin d'avoir 80% d'acétone au final. Le tout est laissé à -20°C pendant 40 mn. On centrifuge 10000 g / 20mn et on récupère le surnageant dans un ballon. Le liquide ainsi obtenu, est évaporé au Buchi au maximum sans arriver à sec. Ensuite, on opère au transvasement du contenu du ballon dans un eppendorf taré.

Pour solubiliser l'extrait, on rince le ballon avec du méthanol au speed vac et on ajoute de l'eau. Ainsi, l'extrait obtenu est soumis à plusieurs étapes, à savoir la congélation à -80°C, la lyophilisation, la pesée et enfin l'entreposage en tube eppendorf au congélateur à -20°C.

▪ **Electrophorèse protéique de PA1b (SDS-PAGE)**

L'électrophorèse est réalisée sur gel de polyacrylamide (gel de séparation à 17,5 % et gel d'espacement à 4,5 %) en présence de SDS 0,1% selon la méthode de Laemmli (1970). Le polypeptide a été dénaturé 5 mn à 100 °C dans du tampon à charge (60 Mm Tris-HCL, pH 6.8, SDS 2%, 50 Mm DTT et 10% glycérol (v/v), 0.001% Bleu de bromophénol) puis séparé à voltage constant (200V).

La masse moléculaire du polypeptide est déterminée par référence à des protéines étalons (Pharmacia) allant de 14,4 kDa à 94 kDa pour le standard de haut poids moléculaire et de 2,5 kDa à 16,9 kDa pour le standard peptide. La protéine a été révélée sur le gel au nitrate d'argent selon le protocole décrit par Blum *et al.* (1987), avec un temps de fixation de 50 mn pour éviter la perte de PA1b, soluble dans le méthanol.

Afin de vérifier la présence de la protéine PA1b dans la zone de migration ; pour cela, sont déposés sur le même gel, environ 10 µg de PA1b purifié et la fraction albumine de la farine de pois extraite au méthanol 60 % (SRA1-60).

▪ **Préparation de l'aliment artificiel**

Selon la méthode décrite par Wicker (1984) et améliorée par Gressent *et al.* (2003) pour la préparation de l'aliment artificiel à une teneur en pois désirée : On pèse dans un tube eppendorf l'extrait de PA1b, on ajoute 167µl d'eau ultra pure puis on complète à l'échantillon liquide avec de la farine de blé tendre au moyen d'un transvasement col à col des tubes pour avoir une boulette de 250 mg. L'ensemble est bien mélangé avec une spatule.

Des cylindres de 0,3 à 0,5 cm de diamètre et de 5 à 10 cm de long sont façonnés et séchés pendant environ 1 heure à la température ambiante du laboratoire. Ils sont ensuite découpés en tranches de 0,3 à 0,5 cm. Ensuite, on les laisse sécher toute une nuit à la température ambiante du laboratoire. Les boulettes sont alors stockés à +4°C dans des boîtes fermées jusqu'à utilisation.

Pour la mise en place du test, 30 charançons adultes de moins de 15 jours sont placés dans chaque tube sur les boulettes de blé tendre (témoin) et de pois (toxique), à des concentrations de 0.001, 0.01, 0.1, 1 et 10%. Les boîtes sont placées ensuite dans une enceinte régulée à 27±0.2°C et à 70±5 % hr, à l'obscurité. Le nombre de répétition étant de trois.

Les insectes morts sont comptés et retirés à partir du 3^{ème} jour pour l'étude de la cinétique de mortalité jusqu'au dernier survivant. Le même procédé est effectué avec des concentrations de 1 et 10 % pour chaque espèce de légumineuses.

4.1.3. Résultats et discussion

4.1.3.1. Détection électrophorétique de PA1b

La protéine PA1b du pois forme une tâche s'étalant de 4 à 6 kDa et non pas une bande bien définie. Ceci pourrait être dû, dans le cas de PA1b purifié, à la présence de plusieurs formes plus ou moins dénaturées du même peptide (Louis *et al.*, 2007).

Ainsi, toute trace protéique autour de cet intervalle peut être interprétée comme pouvant correspondre à des analogues de PA1b. On observe de telle trace pour la fraction MeOH60 du pois. Ce résultat confirme bien que ces dans cette fraction que le PA1b se situe (Louis *et al.*, 2007 ; Rahioui *et al.*, 2007). De ce fait, on peut conclure que cette trace correspond bien à des isoformes de PA1b (figure 10).

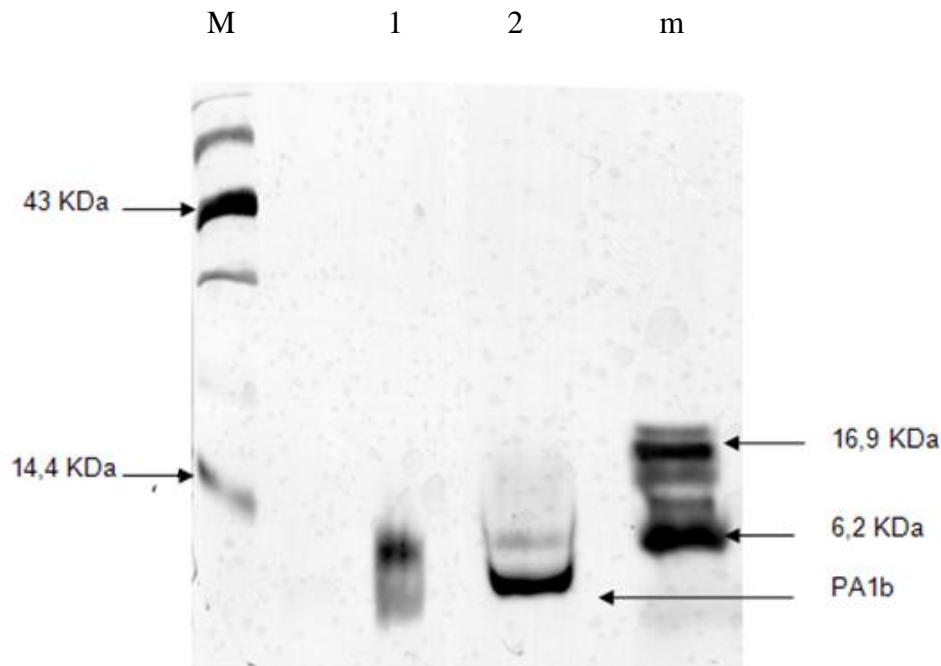


Figure 10. SDS-PAGE révélé à l'argent sur les fractions MeOH60 du pois (1), marqueurs de poids moléculaires (M, m) ; SRA1M60 (2). Environ 10 µg de protéines ont été déposées pour les puits.

4.1.3.2. Toxicité de PA1b du pois

On constate qu'après 2 jours d'alimentation de *Sitophilus granarius* L. sur blé (*Triticum aestivum* Desf.) et sur pois (*Pisum sativum* L.), il n'y a pratiquement pas de mortalité. Au troisième jour, on note en général 1 à 2 morts sur blé comme sur pois. Au-delà, la mortalité se présente différemment, selon que les charançons sont sur blé ou sur pois (figure 11).

Sur le blé, on n'observe pas d'augmentation de la mortalité jusqu'à 15 jours où l'expérience a été arrêtée. Sur le pois, pour une concentration de 10 % du PA1b, on observe à partir du troisième jour une augmentation rapide de la mortalité dépassant les 10%.

A partir de 7 jours, il n'y a quasiment plus de survivants. Pour les concentrations 0.1 % et 1%, les taux de mortalités sont de 73,3% et 93,3% respectivement ; par contre pour les autres concentrations, les taux sont faibles ne dépassant pas le seuil des 20%.

Une corrélation significative positive a été observée entre la concentration d'extrait de farine de pois et le taux de mortalité de *Sitophilus granarius*, qui est conformément aux

résultats annoncés par Fields *et al.* (2001). Ainsi, la farine de pois riche en protéine est toxique au charançon (Hou *et al.*, 2006).

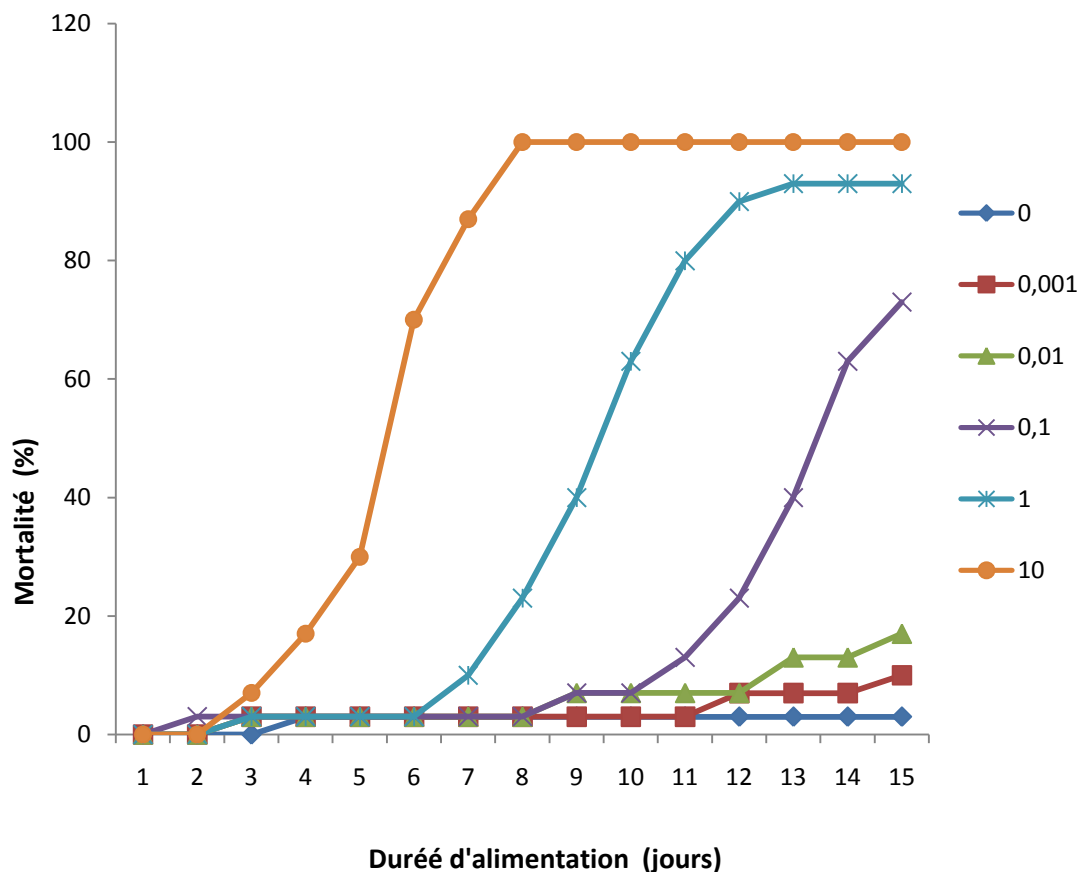


Figure 11. Mortalité cumulée (%) des adultes de *Sitophilus granarius L.* sur blé (témoin) et sur pois en fonction des concentrations (0,001, 0,01, 0,1, 1 et 10 %) et de la durée d'alimentation.

Selon Fields (2006), le *Sitophilus spp* est le plus sensible des insectes testés, suivi de *Cryptolestes ferrugineus*, *Tribolium castaneum* et *Rhyzopertha dominica*. Ceci a été confirmé par les travaux de Hou *et al.* (2004), qui notent que le traitement du blé avec la farine de pois enrichie en protéine, à une concentration de 0,04 et 0,1 %, a réduit la population de *Sitophilus oryzae* de 26 et 79 % respectivement et de *Cryptolestes ferrugineus* de 27 et 43 % respectivement. Pour une concentration de 1%, le taux de mortalité de *Sitophilus oryzae* atteint 100% pendant 3 semaines sur le riz (Pretheep-Kumar *et al.*, 2004).

En plus de l'efficacité de la protéine du pois sur la réduction des populations de *Cryptolestes ferrugineus*, *Sitophilus spp*, *Tribolium castaneum* et *T.confusum*, Fields *et al.* (2001), notent qu'elle est également répulsive à des concentrations de 0.1% et 1%, après 1heure d'exposition. Cette répulsion est de l'ordre de 91,2% après 48 heures d'exposition de *Sitophilus oryzae* sur du riz traité à une concentration de 1% (Pretheep-Kumar *et al.*, 2004).

Cependant, les travaux de Hou *et al.* (2006), montrent que les toxines de la farine de pois riche en protéine peuvent franchir la cuticule de l'insecte et par conséquent, les tissus de l'intestin moyen seront endommagés avec la présence de plusieurs bulles de gaz.

Cette sensibilité a été déterminée par Gressent et son équipe, par la mise en évidence d'un site de liaison à forte affinité (Kd 2,6 nm) pour la protéine PA1b dans les extraits de protéines membranaires de charançons sensibles et qui semble absent ou muté chez les souches résistantes. La corrélation entre la présence du site de liaison et la sensibilité à l'entomotoxine PA1b chez les charançons suggère que ce site, capable de fixer PA1b sur son récepteur, pourrait jouer un rôle majeur dans le mécanisme de toxicité (Gressent *et al.*, 2003).

Ces mêmes auteurs, notent que le site de liaison de cette protéine a été mis en évidence chez les coléoptères, les lépidoptères, les diptères, les hyménoptères et les hémiptères. Cependant, la présence de ce site de liaison n'implique pas forcément que l'insecte va être sensible à la protéine PA1b.

4.1.3.3. Toxicité des homologues de PA1b des légumineuses

Chez les différentes espèces de légumineuses, la lentille (*Lens esculenta* M.), le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.), la fève (*Vicia fabae* L.) et le pois cassé (*Pisum sativum* L.), avec des concentrations de 1% et 10% pour chaque espèce (figure 12 et 13) ; On remarque que toutes les légumineuses testées sont toxiques à l'espèce *Sitophilus granarius* L et une mortalité totale de l'insecte au bout de 14 jours.

On note toutefois, des différences dans la toxicité si l'on considère les mortalités avant 14 jours. Ainsi, à 7 jours le délai de mortalité de 100% sur le pois cassé, des individus sont encore vivants sur le pois chiche (*Cicer arietinum* L.).

La différence s'observe beaucoup plus nettement quand on considère les mortalités à 5 jours. A ce délai d'alimentation certaines espèces provoquent une mortalité totale de

l'insecte aussi bien à 1% qu'à 10%. C'est le cas de *Lens esculenta* M., de *Phaseolus vulgaris* L., et de *Vicia fabae* L. D'autres sont moins toxiques telle que *Cicer arietinum* L. et provoquent une plus faible mortalité de l'ordre de 3 et 23 % à ces deux concentrations respectivement.

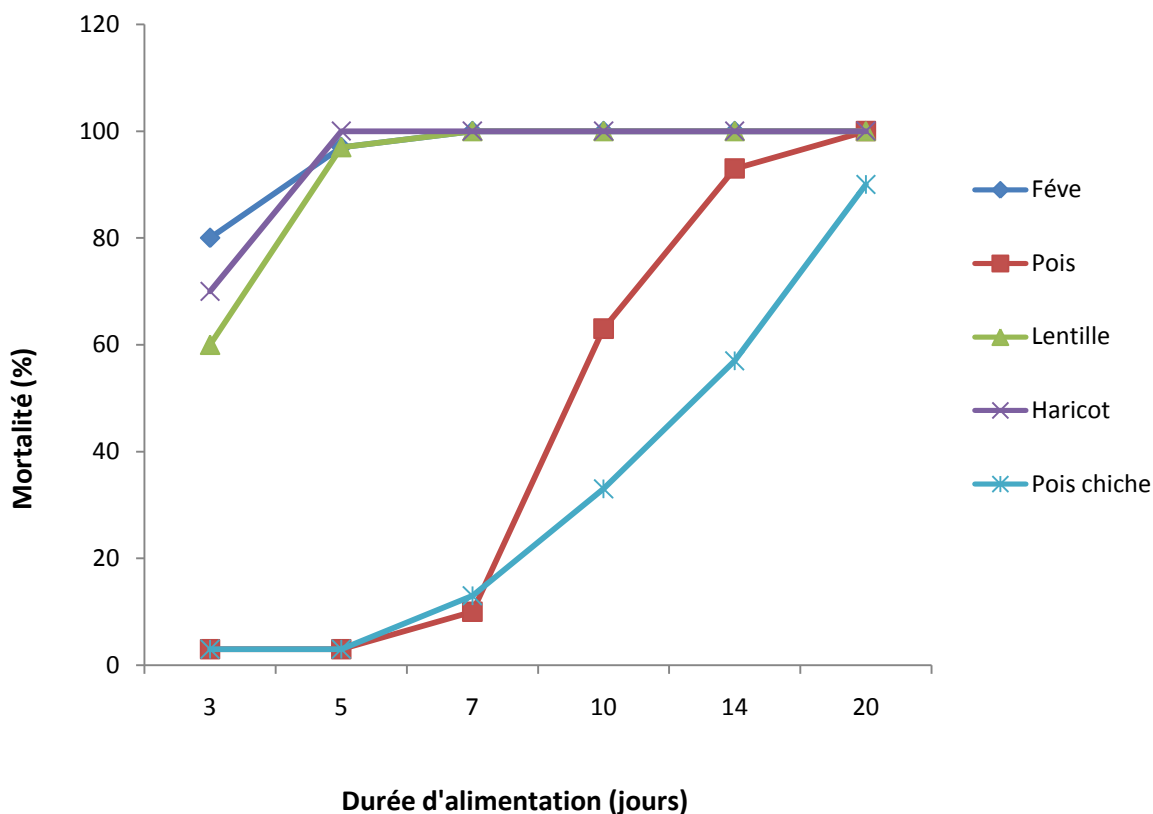


Figure 12. Mortalité cumulée (%) des adultes de *Sitophilus granarius* L. sur les espèces de légumineuses à une concentration de 1% en fonction du temps.

Il faut noter enfin qu'une concentration de 10% de *Cicer arietinum* L., il faut 10 et 20 jours respectivement pour obtenir 100% de mortalité de l'insecte. Ces résultats sont en concordance avec ceux mentionnés par Louis (2004), où la toxicité du pois, soja, haricot et luzerne diffère grandement d'une espèce végétale à l'autre et à différentes concentrations (20, 40, 60 et 80%). En effet, bien que dans tous les cas, tous les insectes de *Sitophilus oryzae* L. meurent en 15 jours quelque soit la concentration en farine.

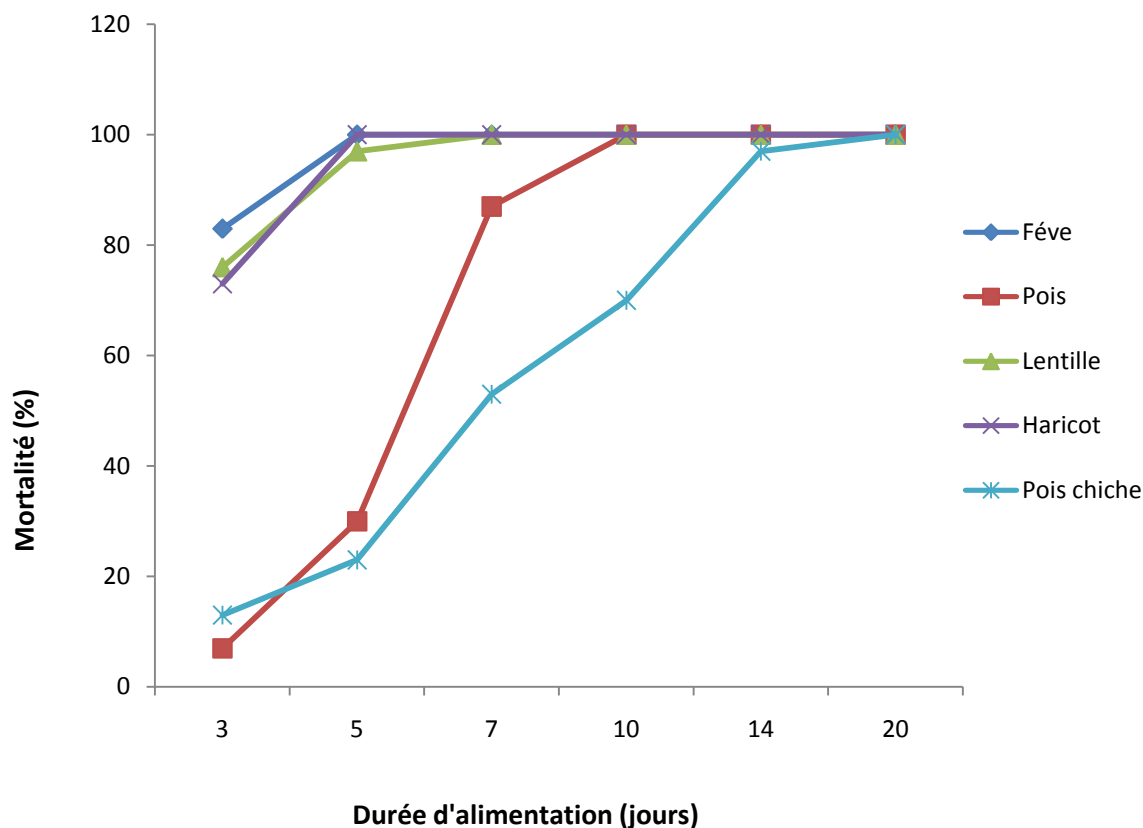


Figure 13. Mortalité cumulée (%) des adultes de *Sitophilus granarius* L. sur les espèces de légumineuses à une concentration de 10 % en fonction du temps.

Ce constat a été également observé sur des individus de *Sitophilus granarius* L. ou, on peut dire que l'agent responsable étant la protéine toxique purifiée, mais il n'est pas exclu que ses effets soient conjugués avec ceux d'autres substances secondaires avec des effets anti-appétant et toxiques contenues dans ces espèces. Car à 3 jours d'alimentation seulement *Vicia fabae* L., *Phaseolus vulgaris* L. et *Lens esculenta* M., tuent pratiquement tous les insectes alors que ces seulement à ce moment que le *Pisum sativum* L., commence à se montrer toxique et qu'on observe des morts sur cet aliment.

4.1.4. Conclusion

Il est courant pour les insectes des denrées stockées d'avoir de grandes différences dans la sensibilité aux insecticides synthétiques. Il y a eu peu de recherches sur les causes de ces différences de sensibilité, mais ils sont probablement dus à des différences d'absorption de l'insecticide, la dégradation à l'intérieur de l'insecte et le mode d'action. Par conséquent, il n'est pas surprenant qu'il y ait de grandes différences dans la sensibilité à la farine de pois riche en protéines entre les différents ravageurs du grain entreposé (Fields, 2006).

La toxicité de la protéine PA1b du pois et les homologues de différentes espèces de légumineuses (Haricot, Pois-chiche, Lentille et Fève) a été testée sur le charançon du grain. On note toutefois, des différences dans la toxicité entre ces légumineuses alimentaires, du fait probablement de la présence de substances secondaires.

En prévision de probables modifications des législations, les insecticides devraient être remplacés par des méthodes physiques telles que le refroidissement des silos, la conservation sous CO₂ ou sous azote. Ces méthodes sont délicates et onéreuses, elles demandent une haute technicité, et ne sont pas applicables partout. Une autre alternative est de rendre les graines résistantes aux insectes grâce à une modification génétique.

Cette protéine, d'origine végétale est partout présente mais à des niveaux variables. Elle est issue d'une plante et d'un tissu consommé régulièrement par l'homme, minimise les risques d'une toxicité, même si elle existe, elle doit être très faible. De ce fait, elle devrait être valorisée dans le cadre d'une utilisation transgénèse végétale pour la protection contre plusieurs insectes.

4.2. Potentiel bio contrôle de *Pseudomonas syringae* contre *Sitophilus granarius L.*

4.2.1. Objectif

L'objectif de cette étude est de déterminer l'efficacité comparée de *Pseudomonas syringae* et des températures basses sur la mortalité de *Sitophilus granarius L.*

4.2.2. Matériels et méthodes

4.2.2.1. Matériel animal

Les insectes proviennent des échantillons prélevés des cellules de stockage dans la région d'étude. 200 individus adultes de *Sitophilus granarius L.*, issus d'un élevage de masse $27\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ et à $70\pm 5\%$ hr, ont été isolés et mis en contact, à raison de 25 individus adultes, dans chacune des boîtes de Pétri contenant 20 grammes de blé tendre stérilisé de la variété Marchouche.

4.2.2.2. Matériel biologique

La source bactérienne de *Pseudomonas syringae*, provient du laboratoire de microbiologie de l'Université de Sétif. Elle a étéensemencée dans un milieu King B (Annexe) à une température de 25°C afin de renforcer sa croissance. A partir des colonies de 48h, nous avons effectué des dilutions de 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} , procédés au comptage des cellules bactériennes à l'aide de la cellule Malassez et notés les doses suivantes : 2.10^5 , 2.10^6 et 4.10^7 cfu/ml. Cette souche présente l'intérêt d'être faiblement toxique, biodégradable, et compatible avec les mesures de contrôle utilisées dans les programmes de lutte intégrée.

Les individus adultes sont exposés dans un premier temps, à différentes températures basses de 10, 5, et 0°C pendant 12 semaines et, dans un deuxième temps, ils sont soumis à chacune de ces températures, à une pulvérisation d'une suspension bactérienne de *Pseudomonas syringae*, à différentes doses, de 2.10^5 , 2.10^6 et 4.10^7 cfu/ml, pendant 48 heures. Le nombre de répétitions étant de 3. Il en est de même pour l'essai témoin.

L'exploitation des résultats, est réalisée par le logiciel XLSTAT (version.7).

4.2.3. Résultats et discussion

4.2.3.1. Effet des températures basses sur la mortalité de *Sitophilus granarius L*

L'organisme de stockage des céréales désirent limiter l'utilisation des pesticides en cours du stockage durant les périodes de basses températures (tableau 17), doit saisir l'opportunité qu'offre les conditions climatiques hivernales des régions des hautes plaines Sétifiennes où les températures enregistrées au niveau de l'O.N.M , ne dépassent pas le seuil de 10°C (Anonyme., 2008).

Tableau 17. Températures hivernales enregistrées en région semi-aride des hautes plaines Sétifiennes de l'année 2003 à 2008.

Années	2003/2004	2004/2005	2005/2006	2006/2007	2007/2008
Mois					
Décembre	8.46	6.5	6.46	5.49	7.08
Janvier	6.08	6.7	1.10	6.43	6.44
Février	5.37	9.3	4.18	5.1	7.91

Anonyme (2008)

Après avoir exposé le charançon du grain durant 12 semaines de stockage à 0, 5 et 10 °C (figure 14), il est clair que les chiffres obtenus à l'issue de cet essai, montrent que les variations de températures ont une influence très marquée sur la mortalité de l'espèce. Ainsi, nous avons noté moins de 25% de mortalité à 10°C, 90% de mortalité à 5°C pendant 12 semaines; par contre le taux de mortalité atteint les 100% pendant 7 semaines à 0°C.

Ce constat a été également mentionné par Richard *et al.* (1992), où les températures basses décroît significativement la capacité de survie des insectes des stocks.

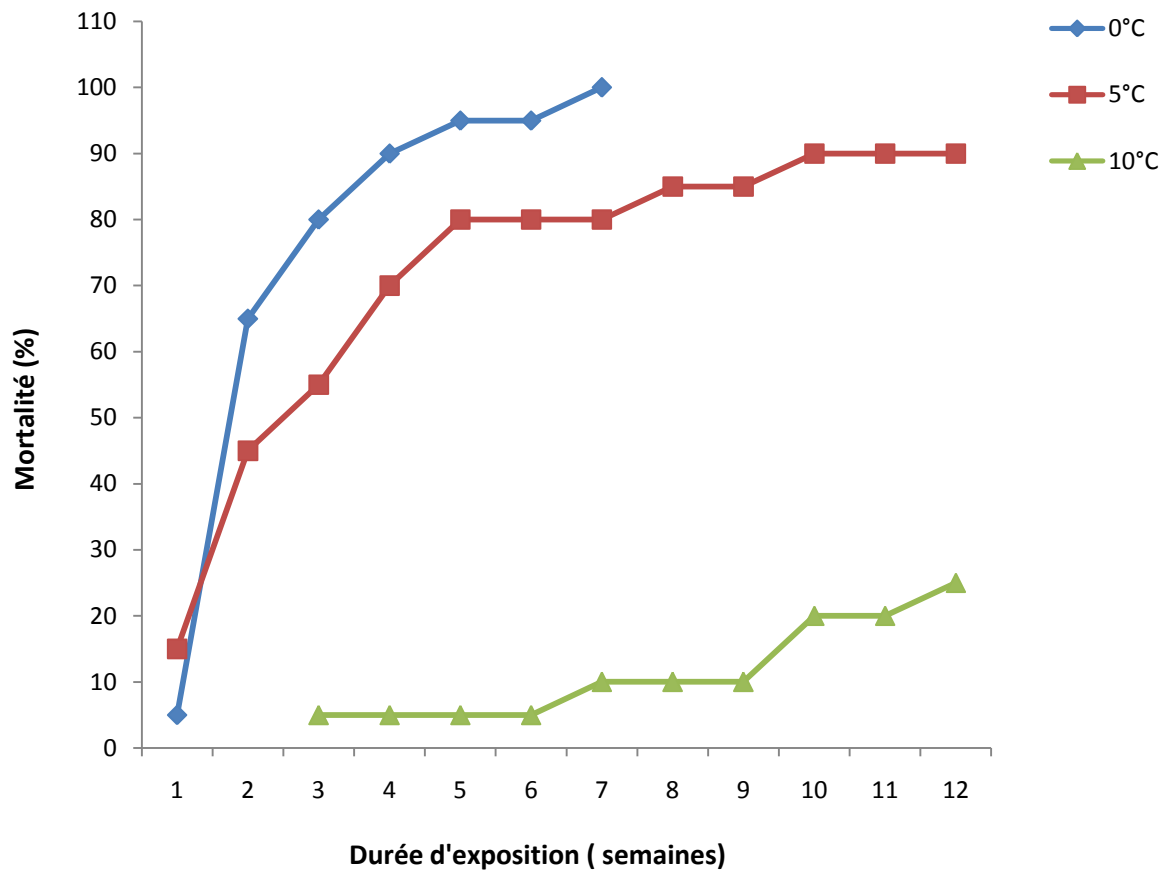


Figure 14. Influence de la température et de la durée d'exposition sur la mortalité de *Sitophilus granarius L.*

De plus, l'analyse graphique de la régression appuie cette observation (figure 15) et, fait remarquer que la courbe de pourcentage de mortalité de *Sitophilus granarius L.* en fonction des températures basses (0, 5 et 10°C), pendant 48 heures d'exposition, s'ajuste bien avec une courbe de tendance linéaire du premier degré pour l'espèce ($y = 77,33 x - 6,44 z$). Cette régression est hautement significative ($P = 0,002 < 0,01$) avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,64$.

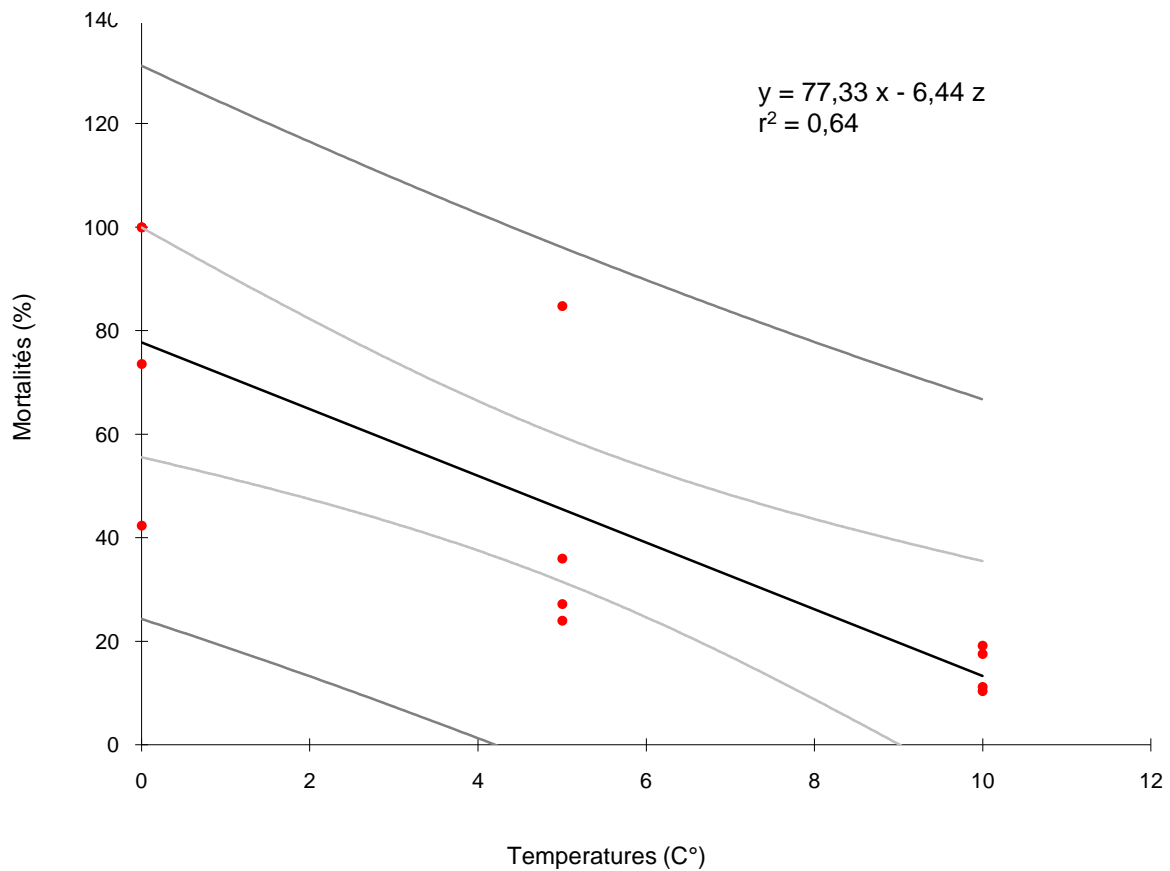


Figure 15. Evolution du taux de mortalité de *Sitophilus granarius L.* en fonction des températures basses pendant 48 h d'exposition.

4.2.3.2. Effet des doses de *Pseudomonas syringae* sur le taux de mortalité de *Sitophilus granarius L.*

L'évolution de la mortalité de *Sitophilus granarius L.* après 48 heures d'exposition à différentes concentrations bactériennes de *Pseudomonas syringae* (2.10^5 , 2.10^6 et 4.10^7 cfu/ml), montre qu'il ya un effet de variation de la dose sur le pourcentage de mortalité de l'espèce (figure.16). Aussi, il est à constater que la courbe du taux de mortalité, s'ajuste bien avec une fonction linéaire du premier degré pour l'espèce ($y = 37,26 x + 7,84.10^7 z$). Cette dernière est non significative ($P = 0,19 > 0,05$), avec un coefficient de corrélation faible ($r^2 = 0,16$). Notons que l'espèce montre une certaine sensibilité, dépassant les 50% de mortalité dès la dose de 2.10^5 cfu/ml et une mortalité totale à la dose de 4.10^7 cfu/ml.

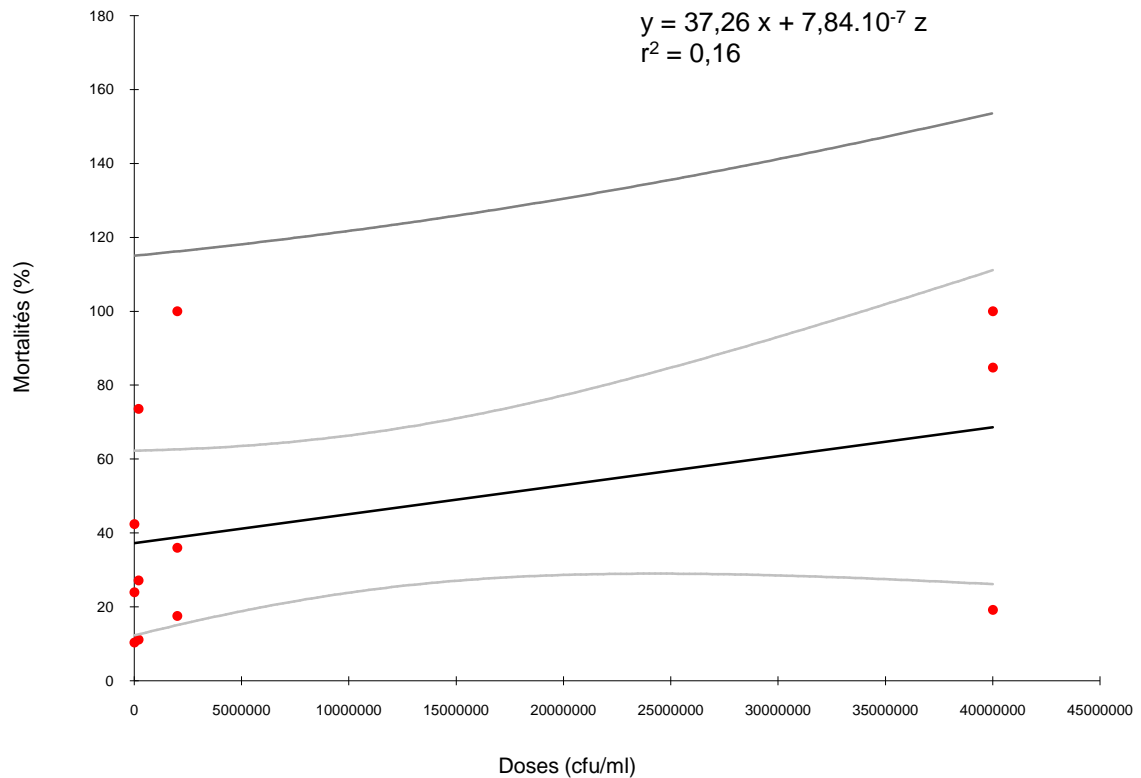


Figure 16. Evolution du taux de mortalité de *Sitophilus granarius L.* en fonction des doses de *Pseudomonas syringae* pendant 48h d'exposition.

4.2.3.3. Effet combiné des températures basses et des doses de *Pseudomonas syringae* sur le taux de mortalité de *Sitophilus granarius L.*

L'effet combiné des températures basses et des doses de *Pseudomonas syringae* montre que la bactérie se manifeste très bien sur l'espèce à 0°C dès la dose de 2.10^5 cfu/ml avec un taux de mortalité de 73,6 %; de plus une mortalité totale est observée à la dose maximale de 4.10^7 cfu/ml. Cette dernière atteint un taux de mortalité de 84,8% à 5°C. Par contre à 10°C, l'effet est faible ne dépassant pas 20% de mortalité (figure.17).

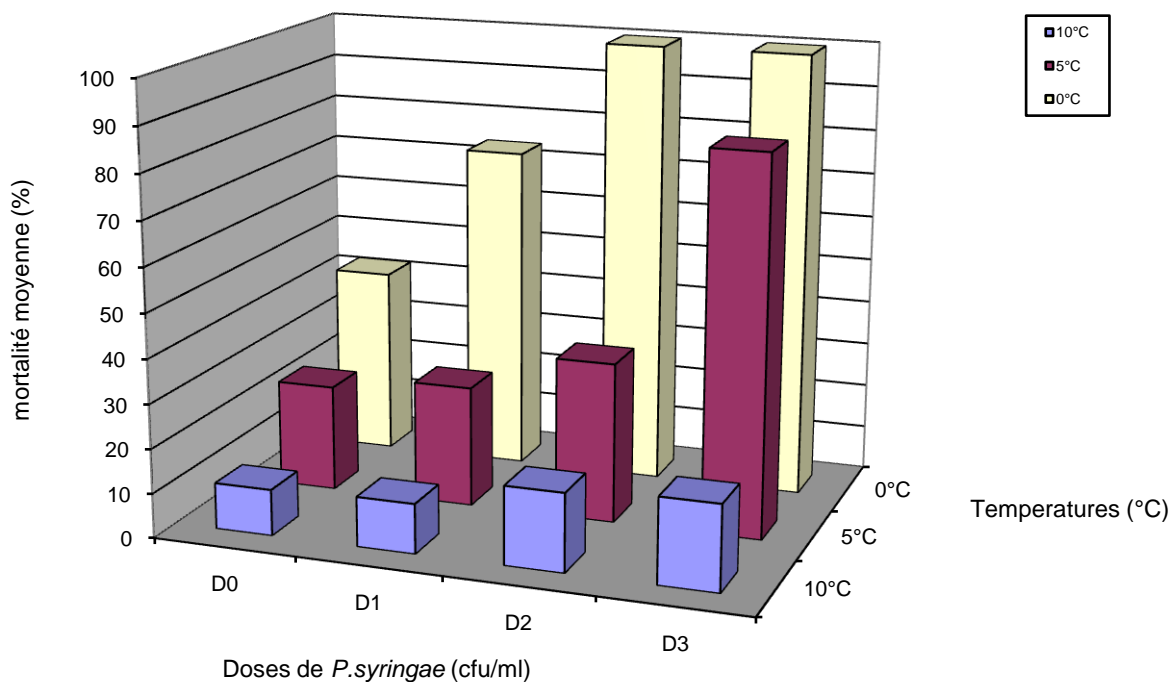


Figure 17. Evolution du taux de mortalité de *Sitophilus granarius* L. en fonction des doses de *Pseudomonas syringae* et des températures basses pendant 48h d'exposition.

Le taux de mortalité augmente en fonction des doses utilisées et des températures employées. La mortalité hivernale de l'espèce est réduite lors du refroidissement des grains par des phénomènes d'acclimatation des insectes aux basses températures. De plus, nous avons noté des différences significatives de sensibilité de l'espèce au froid.

Au printemps, la température au sein des silos augmente rapidement et les insectes ayant survécu aux conditions hivernales se reproduisent de nouveau et peuvent être à l'origine de dégâts considérables. L'organisme de stockage utilisant exclusivement les basses températures pour lutter contre les insectes en général et *Sitophilus granarius* L en particulier, doit généralement effectuer un traitement chimique à la fin du stockage. C'est pourquoi nous avons effectué des essais sur les potentialités d'utilisation des bactéries gel-nucléantes de *Pseudomonas syringae* dans la lutte par le froid contre cette espèce.

Plusieurs auteurs, dont Lee *et al.* (1992) ; Fields (1992), ont expliqué ceci par la libération de toxines produites par *Pseudomonas syringae* et la congélation des différentes fonctions de l'organisme de l'insecte à des températures basses; réduisant ainsi la tolérance au froid, en augmentant leur point de sous refroidissement.

Ceci a été confirmé par les travaux de Richard *et al.* (1992) après application d'une concentration de 100 ppm de *Pseudomonas syringae*, a permis d'augmenter le point de sous refroidissement de *Plodia interpunctella*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus granarius*, *Rhyzopertha dominica* et *Gibbium psyllodes* de 4,7 à 11,9°C. Elle décroît également la capacité de ces insectes à survivre à 24h d'exposition aux températures basses (-5 et -8°C°).

De plus, Mignon *et al.* (1996) notent que l'utilisation raisonnée de la ventilation lors des périodes de gel permet d'atteindre des températures négatives, correspondant au seuil d'efficacité maximale de la bactérie, en dessous de 0°C. Malheureusement, dans les régions des hautes plaines, les conditions climatiques ne permettent pas d'obtenir chaque année de telles températures.

4.2.4. Conclusion

L'organisme de stockage désirent limiter l'utilisation des pesticides en utilisant les méthodes alternatives et en particulier les bactéries gel-nucléantes de *Pseudomonas syringae* devra investir dans une installation de ventilation avec refroidissement artificiel de l'air. Il pourra utiliser les basses températures pour stopper le développement des insectes en général et *Sitophilus granarius* L. en particulier et au cours de stockage traiter à l'aide de la bactérie gel-nucléante. L'intérêt de cette bactérie a été mentionné par Richard *et al.* (1992) et notent qu'il est difficile de lui développer une résistance, car elle exigerait le blocage de toutes les possibilités de contact entre la bactérie et l'eau du corps de l'insecte. Ainsi, le développement des mécanismes physiologiques de la résistance à l'effet gel nucléant de la bactérie peut être un processus plus complexe par rapport aux mécanismes de résistance aux produits chimiques.

En outre, elle peut compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des ravageurs (Fravel, 2005 ; Thakore, 2006). En somme, aucune de ces méthodes ne devrait être ignorée ou négligée, dans l'esprit d'aboutir au niveau des denrées stockées à un concept de lutte intégrée ; plutôt qu'à un recours systématique à la lutte chimique.

Conclusion générale et perspectives

L'homme s'est de tout temps préoccupé de la protection de ses ressources alimentaires dont les céréales constituent la base. Face à ces problèmes, la gestion des infrastructures de stockage doit être orientée vers une lutte contre toutes les sources de déperditions, par le contrôle des céréales en général et, le blé en particulier, l'amélioration des conditions de stockage et la connaissance des phénomènes observés dans ce milieu.

L'étude de la biodétérioration du blé stocké dans la région de Sétif a révélé que les paramètres physiques, de température et de teneur en eau du grain sont de 25 °C et 14,5 % respectivement, supérieurs à la norme de stockage. De plus, les paramètres biologiques du grain, ont montré la présence de moisissures, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp et *Rhizopus* sp ; d'un acarien *Cheyletus eruditus* et d'insectes *Sitophilus granarius*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum* et *Ephestia Kuhniella*. L'évaluation du degré d'infestation moyen de ces insectes, a montré une forte infestation de l'ordre de 10,63. Nous avons également déterminé avec des moyens de contrôle appropriés, l'impact réel de ces insectes sur les grains de blé, par l'évaluation du taux d'attaque qui est de l'ordre de 15,03%. Pour les paramètres chimiques et technologiques, nous avons observé des écarts de réductions qui influent sur la qualité du blé stocké.

L'évaluation de la sensibilité des espèces de céréales (blé dur, blé tendre, orge, maïs et riz) au *Sitophilus granarius* et *Rhyzopertha dominica*, a montré que la composition biochimique des espèces de céréales (protéine, lipide, cellulose, carbone) a un effet plus ou moins significatif sur le potentiel biotique de *Sitophilus granarius* et de *Rhyzopertha dominica*. Ainsi, plus la teneur en cellulose et en lipide est élevée, plus la durée de développement est longue. L'augmentation de la teneur en cellulose se traduit par une augmentation de la descendance viable chez *Rhyzopertha dominica* et d'une diminution chez *Sitophilus granarius*. Cette dernière espèce dont les larves peuvent être nourries exclusivement avec du gluten et de l'amidon, la digestion de la cellulose n'est pas possible. Pour les lipides, le maïs qui est la graine la plus riche en ce constituant et aussi celle qui donne la plus faible multiplication.

Conclusion générale et perspectives

L'étude des paramètres biologiques de *Sitophilus granarius* et des paramètres technologiques de la teneur en protéine et en glucide des 12 variétés de blé tendre (Binova, Aïn Abid, Marchouche, Arz, Orion, Hidhab, Porenco, Anza, Arfort, Siete ceros, Sleab et Mahon demias), a révélé trois groupes de variétés.

Le groupe 1, regroupe les variétés sensibles qui sont Siete ceros, Arfort, Mahon demias et Hidhab. Ces dernières se caractérisent par une fécondité de $159,92 \pm 27,68$ oeufs ; d'une période de développement de $41,56 \pm 1,16$ jours, d'un indice de croissance de $1,94 \pm 0,16$; d'une perte de poids de $2,89 \pm 0,29$ % et d'une teneur en protéine de $15,93 \pm 0,47$ %.

Le groupe 2, renferme les variétés résistantes, à savoir, Arz, Porenco et Binova. Les valeurs de la fécondité, de la période de développement, de l'indice de croissance, de la perte de poids, de la teneur en protéine et en glucide qui justifient cela sont de $38,27 \pm 8,89$ œufs, de $43,61 \pm 1,54$ jours, de $0,71 \pm 0,02$ de $1,40 \pm 0,01$ %, de $9,80 \pm 0,51$ % et de $73,49 \pm 0,23$ % respectivement.

Enfin, le groupe trois comporte les variétés Aïn Abid, Orion, Anza, Marchouche, et Sleab qui sont du type moyennement sensibles. Elles se distinguent par un poids de mille grains de $43,46 \pm 3,07$ g ; une humidité du grain de $12,08 \pm 0,15$ % et une teneur en glucide de $71,81 \pm 1,09$ %.

La toxicité de la protéine entomotoxique au *Sitophilus granarius* L. a été recherchée dans un premier temps chez le pois cassé (*Pisum sativum* L.). Pour une concentration de 10 % de PA1b, on observe une mortalité de l'ordre de 10%, au-delà du troisième jour. Mais à partir de 7 jours, il n'y a quasiment plus de survivants. Pour les concentrations 0.1 % et 1%, les taux de mortalités sont de 73,3% et 93,3% respectivement ; par contre pour les autres concentrations 0.001%, 0.01%, et 0.1%, les taux sont faibles ne dépassant pas le seuil des 20%. Sur le blé, la mortalité n'a pas augmenté de 1 à 2 insectes jusqu'à 15 jours où l'expérience a été arrêtée.

Dans un deuxième temps, chez les différentes espèces de légumineuses, Lentille (*Lens esculenta* M.), Haricot flageolet (*Phaseolus vulgaris* L.), Fève aquadulce (*Vicia fabae* L.), Pois chiche (*Cicer arietinum* L.) et le Pois cassé (*Pisum sativum* L.), avec des concentrations de 1% et 10% pour chaque espèce. On remarque que toutes les légumineuses testées sont toxiques au *Sitophilus granarius* L et une mortalité totale de l'insecte au bout de 14 jours.

Conclusion générale et perspectives

On note toutefois des différences dans la toxicité quand on considère les mortalités à 5 jours. A ce délai d'alimentation, certaines espèces provoquent une mortalité totale de l'insecte aussi bien à 1% qu'à 10%, c'est le cas de *Lens esculenta* M., de *Phaseolus vulgaris* L., et de *Vicia fabae* L. Par contre, pour une concentration de 10% de *Cicer arietinum* L, il faut 20 jours pour obtenir 100% de mortalité de l'insecte.

Pour les mortalités des individus de *Sitophilus granarius* L on peut incriminer la protéine toxique purifiée mais il n'est pas exclu que ses effets soient conjugués avec ceux d'autres substances secondaires avec des effets anti-appétant, car à 3 jours d'alimentation seulement *Vicia fabae* L., tue pratiquement tous les insectes, alors que ce n'est seulement à ce moment que *Pisum sativum* L., se montre toxique et qu'on commence à observer des morts sur cet aliment.

L'utilisation de la bactérie gel-nucléante de *Pseudomonas syringae*, est efficace contre *Sitophilus granarius* L. L'exposition du charançon du grain durant 12 semaines de stockage aux températures basses (0, 5 et 10 °C), montre moins de 25% de mortalité à 10°C et 90% de mortalité à 5°C ; par contre le taux de mortalité atteint les 100% pendant 7 semaines à 0°C. De plus, la sensibilité de ce ravageur augmente après seulement 48 heures d'exposition à différentes températures (0, 5 et 10°C) et concentrations bactériennes (2.10^5 , 2.10^6 et 4.10^7 cfu/ml). L'effet de la bactérie se manifeste très bien sur l'espèce à 0°C dès la dose de 2.10^5 cfu/ml avec un taux de mortalité de 73,6% ; de plus une mortalité totale est observée à la dose maximale de 4.10^7 cfu/ml. Cette dernière atteint un taux de mortalité de 84,8% à 5°C.

Cependant, la gestion des infrastructures de stockage doit être orientée vers une lutte contre toutes les sources de déperditions, par le contrôle des grains stockés, l'amélioration des conditions de stockage et la connaissance des phénomènes observés dans ce milieu.

Les méthodes classiques de lutte ne sont pas toutes satisfaisantes et pas applicables partout dans le monde. Avec le souci grandissant du respect de l'environnement et de la santé humaine et animale, des recherches récentes se sont concentrées sur la mise au point d'insecticides biologiques pour protéger les céréales stockées contre les dommages causés par certaines espèces d'insectes, comme le charançon.

Il serait souhaitable de continuer cette recherche par l'approfondissement des analyses technologiques des variétés de blé, afin de connaître la composition biochimique des protéines

Conclusion générale et perspectives

et, pour arriver à trouver les antienzymes, qui représentent elles mêmes des protéines considérés, comme à la base d'un mécanisme de défense naturel des grains contre les charançons des céréales stockées.

Les travaux que nous avons menés sur les méthodes de lutte alternative contre *Sitophilus granarius* L. ont montré que l'utilisation d'outils microbiologiques et biotechnologiques paraît encourageante. Un des aspects intéressants de nos résultats est que *Pseudomonas syringae* perturbe le métabolisme de *Sitophilus granarius* L. Il est cependant nécessaire d'étudier l'effet d'autres souches par ingestion de spores et de comprendre le mode d'action de la bactérie.

De plus, des progrès restent à faire dans la sélection de souches pathogènes anti-insectes de *Bacillus thuringiensis*, si possible spécifiques à *Sitophilus sp*, en particulier avec l'ingestion de spores. Cela nécessite l'étude des mécanismes, de la spécificité d'action des toxines de cette bactérie, notamment sur des récepteurs intestinaux.

Enfin, la recherche de nouvelles classes de gènes de résistance ou d'entomotoxines chez les végétaux, repose sur la découverte d'un nouveau polypeptide des légumineuses toxique pour les charançons des céréales et d'autres insectes. L'étude porte sur la caractérisation des tissus et molécules cibles de cette toxine, chez les insectes afin de permettre, l'identification moléculaire de ses récepteurs chez les insectes potentiels et, le mode d'action de ces protéines végétales toxiques pour les insectes. C'est une étape importante du processus de création de variétés résistantes aux insectes ravageurs et constitue un espoir pour l'avenir dans la protection des cultures.

Références bibliographiques

- Abe, K., Emori, Y., Kondo, H., Suzuki, K., and Arai, S. (1987). Molecular cloning of cysteine proteinase inhibitor of rice (oryzacystatin). Homology with animal cystatins and transient expression in the ripening process of rice seeds. *J.Bio.Chem* **262**, 16793-16797.
- Abramson, D., Hulasare, R., York, R.K., White, N.D.G., and Jayas, D.S. (2005). Mycotoxins, ergosterol and odor volatiles in durum wheat during granary storage at 16% and 20% moisture content. *J.Stored.Prod.Res* **41**, 67-76.
- Adams, J. M., and Schulten, G. G. M. (1978). Losses caused by insects, mites and microorganisms. In: Postharvest grain loss assessment methods *Ed.Harris, K.L. and Lindblad, C.J. American.Ass.Cereal.Chem, St Paul MN*, 83-95.
- Addor, R. W. (1995). Insecticides. In: Agrochemicals from natural products. *Ed.Godfry, C.R.A, New york.*, 1-36.
- Ahmed, S. I., and Leather, S. R. (1994). Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management-some points for consideration. *Intern.J. Management* **40**, 287-292.
- Amas, J. G., Semple, R. L., and Williams, P. (1986). Multiplication of some stored grain insects on varieties of wheat. *General and Appl. Entomo.* **18**, 48-52.
- Anan, M., and Pant, N. C. (1980). Effect of various antibiotics and sulfa drugs on the symbiotes of *Rhyzopertha dominica* F. *Indian.J.Entomol* **42**, 98-101.
- Anonyme. (1987). <http://www.ozone.unep.org/>.
- Anonyme. (1996). Agro industriel. *J. Agri. Ind. Agro. Alim. Algérie* **36**, 16 p.
- Anonyme. (2001). Legumes of the World. *International Legume Database and Information Services, University of Reading.*
- Anonyme. (2003). Au fil des saisons. Le séchage : des machines et des hommes. *J. Adhér. Compt. Agric* **5**, 4 p.

- Anonyme. (2008). Données climatiques. *Station météo Setif Algérie*, 12 p.
- Anonyme. (2009). Perspectives de récoltes et situation alimentaire. *Food and nutrition series, Rome* **4**, 37 p.
- Arthur, F. H. (2004). Evaluation of methoprene alone and in combination with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera:Bostrichidae) on stored wheat. *J. Stored.Prod.Res* **40**, 485-498.
- Arthur, F. H., and Throne, J. E. (2003). Efficacy of diatomaceous earth to control internal infestations of rice weevil and maize weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol* **96**, 510-518.
- Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Economou, L. P., Dimizas, C. B., Vayias, B. J., Tomanovic, S., and Milutinovic, M. (2005). Persistence and efficacy of three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera:Curculionidae) on wheat and barley. *J.Econ.Entomol* **98**, 1404-1412.
- Bajaj, S., and Mohanty, A. (2005). Recent advances in rice biotechnologie towards genetically superior transgenic rice. *Plant Biotech.J* **3**, 275-307.
- Baker, J. E. (1992). Role of methodology in assessment naturally occurring α amylase inhibitors as resistance factors against insects. *Environ. Entomol* **21**, 646-650.
- Baker, J. E., and Loschiavo, S. R. (1987). Nutritional ecology of stored product insects. *Eds. Wiley, J and Sons.New York*, 321-344.
- Baker, J. E., and Woo, S. M. (1988). Dietary modulation of α amylase activity in eight geographical strains of *Sitophilus oryzae* and *Sitophilus zeamais*. *Entomol. Experim. Appli* **1**, 46 p.
- Banks, H. J. (1981). Effects of controlled atmosphere storage on grain quality. *Rev. Tech. Austr* **33**, 335-340.
- Barney, R. J., Sedlacek, J. D., Siddiqui, M., and Price, B. D. (1991). Quality of stored corn (maize) as influence by *Sitophilus zeamais* (Motch.) and several management practices. *J Stored.Prod.Res* **27**, 225-237.

- Batalia, M. A., Monzingo, A. F., Ernst, S., Roberts, W., and Robertus, J. D. (1996). The crystal structure of the antifungal protein zeamatin, a member of the thaumatin-like, PR-5 protein family. *Nat.Struct.Biol* **3**, 19-23.
- Batta, Y., Saleh, A., and Salameh, S. (2007). Evaluation of the susceptibility of wheat cultivars to lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.), (Coleoptera: Bostrichidae). *Arab.J.Plant.Prot* **25**, 159-162.
- Bekon, K. A., and Fleurat-Lessard, F. (1992). Assessment of dry matter loss and frass production in cereal grain due to successive attack by *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Insect.Sci.Appl* **13**, 129-136.
- Belitz, H. D., and Weder, J. K. P. (1990). Protein inhibitors of hydrolases in plant foodstuffs. *Food.Rev.Intern* **6**, 151-211.
- Bell, E. A. (1978). Toxins in seeds. Biochemical aspects of plant and animal coevolution. *Ed. Harbone, J.B., New York*, 143-161.
- Bell, E. A. (1987). Secondary compounds and insect herbivores. *Proceeding.6th Intern. Symp. Insect.Plant. Ed.Labeyrie, V., Fabres, G., Lachaise, D. Dordrecht: J.W, Pau, France* 19-23.
- Bloch, C. J., and Richardson, M. (1991). A new family of small (5kDa) protein inhibitors of insect alpha amylases from seeds of sorghum (*Sorghum bicolor*) have sequence homologies with wheat gamma-purothionins. *FEBS Letters* **279**, 101-104.
- Blum, H., Beier, H., and Gross, H.J., (1987). Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. *Electrophoresis* **8**, 93-98.
- Bode, W., and Huber, R. (1992). Natural protein proteinase inhibitors and their interactions with proteinases. *Eur.J.Biochem* **204**, 433-451.
- Bottino, B. M. (1993). Défense du colza contre les insectes phytophages prédateurs: Etude d'une stratégie basée sur l'expression d'inhibiteurs de protéase dans la plante. *Th.Doct.Univ.Paris Sud. Centre d'Orsay*, 155 p.

Références bibliographiques

- Bottomley, R. A., Christensen, C. M., and Gedds, W. F. (1950). Grain storage studies. The influence of various temperatures, humidities and oxygen concentrations on mold growth and biochemical changes in stored yellow corn. *Cereal.Chem* **17**, 96-271.
- Brattsten, L. B. (1991). Bioengineering of crop plants and resistant biotype evolution: Counteracting coevolution. *Archives.Insect.Biochem.Physiol* **17**, 253-267.
- Brunken, J., Dewet, J. M., and Harlan, J. R. (1977). The morphology and domestication of pearl millet. *Econ.Bot* **31**, 163-174.
- Burges, H. D. (1981). Safety testing and quality control of microbial pesticides. In: Microbial control of pests and plant diseases. *Ed.Burges, H.D., London, 738-769.*
- Cahagnier, B., and Fleurat-Lessard, F. (2002). Bonnes conditions du grain à l'entreposage. *Protection of the 6th International Working Conference on Stored-product Protection* **2**, 1059-1063.
- Cangardel, H., and Fleurat-Lessard, F. (1978). Méthodes de détection et de détermination des insectes et des acariens *Ed.AFNOR et ITCF.Paris* **3**, 99-112.
- Cannon, R. J., and Block, W. (1988). Cold tolerance of micro-arthropods. *Biol.Rev* **63**, 23-77.
- Carlini, C. R., and Grossi de sa, F. (2002). Plant toxic proteins with insecticidal properties. *A review on their potentialities as bioinsecticides Toxicon* **40**, 1515-1539.
- Carruthers, R. I., and Soper, R. S. (1987). Fungal diseases. *Ed. Fuxa, J.R and Tan Ada, Y., New york, 357-416.*
- Champ, B. R., and Dyte, C. E. (1978). Rapport de l'enquête mondiale de la FAO sur les insectes des céréales entreposées et leur nuisibilités aux insecticides *Ed. FAO.Rome, 374 p.*
- Chandrashekar, A., and Satyanarayana, K. V. (2006). Disease and pest resistance in grains of sorghum and millets. *J Cereal.Sci* **44**, 287-304.

Références bibliographiques

- Chen, K. C., Lin, C. Y., Kuan, C. C., Sung, H. Y., and Chen, C. S. (2002). A novel defensin encoded by a mungbean cDNA exhibits insecticidal activity against bruchid. *J.Agric.Food.Chem* **50**, 7258-7263.
- Chrispeels, M. J., and Raikhel, N. V. (1991). Lectins, lectin genes and their role in plant defense. *Plant. cell* **3**, 1-9.
- Christeller, J. T., Farley, P. C., Ramsay, R. J., Sullivan, P. A., and Laing, W. A. (1998). Purification, characterization and cloning of an aspartic proteinase inhibitor from squash phloem exudate. *Eur.J.Biochem* **254**, 160-167.
- Christensen, C. M., Meronuk, R. A., and Sauer, D. B. (1982). Microflore In: Storage of cereal grains and their products. *Ed.Christensen, C.M., American.Ass.Cereal.Chemi, St Paul*, 219-240.
- Ciesielska, Z. (1972). Interspecific competition between populations of three species of coleoptera, *Calandra granaria* (L.), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.). *Ecol.Polska* **10**, 287-298.
- Cloutier, C. (1992). Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. *Ed.Gaétan, M., Québec, Canada*, 19-88.
- Con, E. E. (1980). Cyanogenic compounds. *Ann.Rev.Plant.Physiol* **31**, 433-451.
- Coombs, C. W., Billings, C. J., and Porter, J. E. (1977). The effect of yellow split pea (*Pisum sativum* L.) and other pulses on the productivity of certain strains of *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera:Curculionidae) and the ability of other strains to breed thereon. *J.Stored.Prod.Res* **13**, 53-83.
- Cornelissen, B. J. C., Hooft Van Huijsduijen, R. A. M., and Bol, J. F. A. (1986). Tobacco mosaic virus induced tobacco protein is homologous to the sweet tasting protein thaumatin. *Nature* **213**, 531-531.
- Cox, P. D., and Wilkin, D. R. (1996). The potential use of biological control of pests in stored grain. *Res.Rev.Hom-Grown.Cereal.Authority* **26**, 53 p.
- Creppy, E. (1994). Mycotoxines et santé humaine et animale. *Phyt.Def.Veg* **467**, 27-32.

- D' Mello, J. P. F. (1991). Toxic amino acids. In: Toxic substances in crop plants. *Eds.D'Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Cambridge.Royal.Soc.Chem*, 22-48.
- Daglish, G. J. (2004). Effect of exposure period on degree of dominance of phosphine in adults of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest.Manag.Sci* **60**, 822-826.
- Danho, M., Haubruge, E., Gaspar, C., and Lognay, G. (2000). Selection of grain-host by *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Curculionidae) previously infested grains. *Belg.J.Zool* **130**, 3-9.
- Delobel, B., and Grenier, A. M. (1993). Effect of non-cereal food on cereal weevils and tamarin weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J Stored.Prod.Res* **29**, 7-14.
- Delobel, B., and Tran, M. (1993). Beetels food stored in the hot regions. *Tropic. Fauna. Inst.Res.Develop, Paris*, 424 p.
- Delobel, B., Grenier, A. M., Gueguen, J., Ferrasson, E., and Mbaiguinam, M. (1998). Utilisation d'un polypeptide dérivé d'une albumine PA1b de légumineuse comme insecticide. *Brevet.98/05877.Paris*, 1-25.
- De Maagd, R. A., Bravo, A., and Crickmore, N. (2001). How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends.Gent* **17**, 193-199.
- Dent, D. R. (1991). Integrated insect pest management. *Ed.CAB.Intern.UK*, 439-533.
- Devauchelle, G. (1993). Les baculovirus des insectes intérêt et perspective. *Dos.Cel.Envir., INRA* **5**, 97-101.
- Doyle, J. J., Chapill, J. A., Bailey, D. C., and Kajita, T. (2000). Towards a comprehensive phylogeny of legumes: Evidence rbcL Sequences and non-molecular data. In Advances in legume systematics. *Eds.Herendeen P.S. and Bruneau. A, Kew: Royal Botanic Gardens*, 1-20.
- Doyle, J. J., Doyle, J. L., Ballenger, J. A., Dickson, E. F., Kajita, T., and Ohashi, H. (1997). A phylogeny of the chloroplast gene rbcL in the leguminosae: Taxonomic correlations and insights into evolution of nodulation. *American J.Botany* **84**, 541-554.

- Ducom, P. (1987). Dernières tendances dans la protection des grains stockés. *Phyt.Def.Veg* **385**, 38-39.
- Dunkel, F. V. (1988). The relationship of insects to the deterioration of stored grain by fungi. *Inter.J.Food.Microbiol* **7**, 227-244.
- Dunphy, G. B., and Tibelius, K. H. (1992). Les progrès biotechnologiques augmentant l'efficacité de *Bacillus thuringiensis* et de *Bacillus sphaericus* en tant qu'insecticide microbien. *Ed. Gaetan, M., Québec, Canada*, 305-322.
- Evers, A. D., Blakeney, A. B., and O'Brien, L. (1999). Cereal structure and composition *Aust.J.Agric.Res* **50**, 629-650.
- Fargues, J., Rougier, M., Goujet, R., and Itier, B. (1988). Effect du rayonnement solaire sur la persistance des conidiospores de l'hyphomycète entomopathogène, *Nomuraea rileyi*, à la surface d'un couvert végétal. *Entomophaga*. **33**, 357-370.
- Farjan, M. A. (1983). Population dynamics of two stored durum wheat insects, the rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) and lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) has been studied in the laboratory and at the grain bulk in a simulated climate of North Africa *Th. Ing .Agr. Veter. Hassan II, Rabat*, 99 p.
- Faroni, L. R. A., and Garcia-Maria, Y. F. (1992). Influence of temperature on biological parameters of *Rhyzopertha dominica* (F.). *Bol.San.Veg.Pest* **18**, 455-467.
- Faulkner, P., and Boucias, D. G. (1985). Genetic improvement of insect pathogens emphasis on the use of baculovirus. In: Biological control in agriculture IPM systems. *Eds. Hoy, M.A and Herzog, D.C., Orlando, USA*, 263-280.
- Favreau, J. (1998). La protection contre les ravageurs des denrées liées à l'industrie agro-alimentaire. *Bull.Grain.Tech* **2**, 6-12.
- Feng, G. H., Richardson, M., Chen, M. S., Kramer, K. J., Morgan, T. D., and Reeks, G. R. (1996). α amylase inhibitors from wheat: Amino acid sequences and patterns of inhibition of insect and human α amylases *Insect.Biochem.Mol.Biol* **26**, 419-426.

Références bibliographiques

- Fenwick, G. R., Price, K. R., Tsukamoto, C., and Okubo, K. (1991). Saponins. Toxic substances in crop plants. *Ed. D'Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Cambridge: Royal.Soc.Chem*, 285-327.
- Fery, R. L., and Cuthbert, J. F. P. (1979). Measurement of podwall resistance to the cowpea curculio in the southern pea, *Vigna unguiculata*. *Walp.Hortic.Sci* **14**, 162-171.
- Fields, P. G. (1991). The cold hardiness of *Cryptolestes ferrugineus* and the use of ice nucleating active bacteria as a synergist. *Proceeding. 5th Intern.Work.Conf. Stored.Prod.Prot.Bordeaux* **2**, 1138-1191.
- Fields, P. G. (1992). The control of stored product insects and mites with extrem temperatures. *J.Stored.Prod.Res* **34**, 269-277.
- Fields, P. G. (2006). Effect of *pisum sativum* fractions on the mortality and progeny production of nine stored grain beetles. *J.Stored.Prod.Res* **42**, 86-96.
- Fields, P. G., Xie, Y. S., and Hou, X. (2001). Repellent effect of pea (*Pisum sativum*) fractions against stored-product insects. *J.Stored.Prod.Res* **37**, 359-370.
- Finar, A. L. (1975). The fundamental principles in organic chemistry. *Eds. Longmans, Green and Co, London and New York*, 3551 p.
- Fleurat-Lessard, F. (1978). Description et biologie des acariens. *Eds. AFNOR et ITCF, Paris*, **2**, 67-81.
- Fleurat-Lessard, F. (1988). La détection des insectes et des acariens dans les grains, les dérivés et dans les usines ou entrepôts. *Conf .Journ .Techn. Groupe. Liais. Conserv. Grain.Dériv.Paris*, 22-28.
- Fleurat-Lessard, F. (1989). Autres méthodes de lutte. *Ed. AFNOR et ITCF, Paris*, 165-168.
- Flinn, P. W., and Hagstrum, D. W. (1990). Simulation comparing the effectiveness of various stored grain management practices used to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Environ.Entomol* **19**, 725-729.

- Fornal, J., Jelinski, T., Sadowska, J., Gruda, S., Nawrot, J., Niewiada, A., Warchalenski, J. R., and Blaszczyk, W. (2007). Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* L. eggs and internal stage analysis. *J.Stored.Product.Res* **43**, 142-148.
- Fossdal, C. G., Nagy, N. E., Sharma, P., and Lonneborg, A. (2003). The putative gymnosperm plant defensin polypeptid SPI1 accumulates after seed germination, is not readily released, and SPI1 levels are reduced in *Pythium dimorphum* infected spruce roots. *Plant Mol.Biol* **52**, 291-302.
- Fourar, R. (1994). Variabilité de la sensibilité variétale du blé tendre à *S.oryzae* L. dans le grain et de *T.confusum* D. dans la farine. Analyse des relations écophysiologiques insecte-grain. *Th.Mag.Inst.Nat.Agr.Harrach*, 220 p.
- Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R., Bloch, C., Silva, C. P., and Grossi de sa, M. F. (2000). Activity of wheat alpha amylase inhibitors towards bruchid alpha amylases and structural explanation of observed specificities. *Eur.J.Biochem* **267**, 2166-2173.
- Fravel, D.R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu.Rev. Phytopathol* **43**, 337-359.
- Garcia Casado, G. L., Sanchez Monge, R., Lopez Otin, C., and Salcedo, G. (1994). Rye inhibitors of animal alpha amylases shown different specificities, aggregative properties and IgE-binding capacities than their homologues from wheat and barley. *Eur.J.Biochem* **224**, 525-531.
- Garcia Casado, G., Sanchez Monge, R., Chrispeels, M. J., and Armentia, A. (1996). Role of complex asparagin-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. *Glycobiol* **6**, 471-477.
- Garcia Olmedo, F., Salcedo, G., Sanchez Monge, R., Hernandez Lucas, C., Carmona, M. J., Lopez, F., J.J., Fernandez, J. A., Gomez, L., Royo, J., and Garcia Moroto, F. (1992). Trypsin /alpha amylase inhibitors and thionins: Possible defence proteins from barley. In barley: Genetics, biochemistry, molecular biology and biotechnology. *Ed.Shewry, P.R., Wallingford, United Kingdom*, 335-350.

- Gatehouse, A. M. R., and Boulter, D. (1984). Assessment of the metabolic effects of trypsin inhibitors from cowpea (*Vigna unguiculata*) and other legumes on development of the bruchid beetle (*Callosobruchus maculatus*). *J.Sci.Food.Agric* **34**, 345-350.
- Gatehouse, A. M. R., Minney, B. H., Dobie, P., and Hilder, V. (1990). Biochemical resistance to bruchid attack in legume seeds: Investigation and exploitation. Bruchids and legumes: Economics, Ecology and Coevolution. *Eds.Fuji, K., Gatehouse, A.M.R., Johnson, C.D., Mitchel, R., Yoshida, T. Kluwer.Acad.Publ., Dordrecht (NDL)*, 241-256.
- Giacinto, S., Cristofaro, G. A., and Rotundo, G. (2008). Behavioral responses of adult *Sitophilus granarius* L. to individual cereal volatiles. *J.Chem.Ecol* **34**, 523-529.
- Giga, D. P., and Canhao, S. R. J. (1993). Competition between *Prostephanus truncatus* H. and *Sitophilus zeamais* M. in maize at two temperatures. *J Stored.Prod.Res* **29**, 63-70.
- Girard, C., Bonadé-Bottino, M., Phamdelegue, M. H., and Jouanin, L. (1998). Two strains of cabbage seed weevil (coleoptera: Curculionidae) exhibit differential susceptibility to a transgenic oilseed rape expressing oryzacystatin I. *J.Insect.Physiol* **44**, 569-577.
- Giri, A. P., and Kachole, M. S. (1998). Amylase inhibitors of pigeonpea (*cajanus cajan*) seeds. *Phytochem* **47**, 197-202.
- Godon, B., and Loisel, W. (1984). Pratical guide analysis in the industry of cereals. *Eds. Lavoisier.Technol.Doc, Paris*, 685 p.
- Golebiowska, Z. (1969). Feeding and fecundity of *Sitophilus granarius* L. *Sitophilus oryzae* L. and *Rhyzopertha dominica* F. in wheat grain. *J Stored.Prod.Res* **5**, 143-155.
- Gonde, H., Carre, G., Jussiaux, P., and Gonde, R. (1968). Cours d'agriculture moderne. *Ed.Maison rustique, Paris*, 157-168.
- Goottel, M. S. (1992). Des champignons comme agents de lutte biologique. In la lutte biologique contre les acridiens. *C.A.B. Intern., Ibadan, Nigeria*, 122-131.
- Gough, M. C., Uiso, C. B. S., and Stigtlar, C. J. (1987). Convection currents in bulk grain. *Tropic.Sci* **27**, 29-37.

- Grant, G. (1991). Lectins. In Toxic Substances in Crop Plants. Eds. D'Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Cambridge. Royal. Soc. Chem, 49-67.
- Greathead, D. J., Kooyman, C., Laonois-Luong, M. H., and Popov, G. B. (1994). Les ennemis naturels des criquets du Sahel. *Coll. Acrid. Operat. Ed. CIRAD/PRIFAS, Montpellier* **5**, 147 p.
- Grenier, A. M., Nardon, P., and Bonnot, G. (1986). Importance de la symbiose dans la croissance des populations de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Acta. Oecologica. Applic* **7**, 93-110.
- Gressent, F., Rahioui, I., and Rahbe, Y. (2003). Characterization of a high-affinity binding site for the pea albumin 1b entomotoxin in the weevil *Sitophilus*. *Eur. J. Biochem* **270**, 2429-2435.
- Grossi de sa, M. F., Mirkov, T. E., Ishimoto, M., Colucci, G., Bateman, K. S., and Chrispeels, M. J. (1997). Molecular characterization of a bean alpha amylase of Mexican bean weevil *Zabrotes subfasciatus*. *Planta* **203**, 295-303.
- Gueguen, J., Van Oort, M. G., Quillien, L., and Helsing, M. (1993). The composition biochemical characteristics and analysis of proteinaceous antinutritional factors in legume seeds. *Proceeding. 2th Intern. Workshop on antinutritional factors. Eds. Van Der Poel, A.F.B, Huisman, J. and Wageningen*, 9-30.
- Gupta, A. K., Bahal, S. R., Awasthi, B. K., and Verma, R. A. (2000). Reaction of protein, starch and ash constituent of different varieties of maize on growth and development of *Sitophilus oryzae* L. *Indian. J. Entomol* **62**, 375-381.
- Gwinner, J., Harnisch, R., and Mück, O. (1996). Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte. *GTZ. Eschborn*, 368 p.
- Higgins, T. J., Chandler, P. M., Randall, P. J., Spencer, D., Beach, L. R., Blagrove, R. J., Kortt, A. A., and Inglis, A. S. (1986). Gene structure, protein structure and regulation of the synthesis of a sulfur-rich protein in pea seeds. *J. Biol. Chem* **261**, 11124-11130.
- Hirsh, A. M. (1999). Role of lectins (and rhizobial exopolysaccharides) in legume nodulation. *Curr. Opin. Plant Biol* **2**, 320-326.

- Hou, X., and Fields, P. G. (2003). Granary trial of protein-enriched pea flour for the control of three stored product insects in barley *J.Econ.Entomol* **96**, 1005-1015.
- Hou, X., Fields, P., Flinn, P., Perez-Mendoza, J., and Baker, J. (2004). Control of stored product beetles with combinations of protein-rich pea flour and parasitoids. *Environ.Entomol* **3**, 671-680.
- Hou, X., Taylor, W., and Fields, P. (2006). Effect of pea flour and pea flour extracts on *Sitophilus oryzae*. *Can.Entomol* **138**, 95-103.
- Houseman, J. G., and Chin, P. (1995). Distribution of digestive proteinases in the alimentary tract of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera:Pyralidae). *Archives.Insect.Biochem.Physiol* **28**, 103-111.
- Hruska, A. J. (1988). Cyanogenic glucosides as defense compounds: a review of the evidence. *J.Chem.Ecol* **14**, 2213-3217.
- Huesing, J. E., Shade, R. E., Chrispeels, M. J., and Murdock, L. L. (1991). Alpha amylase inhibitor, not phytohemagglutinin, explains resistance of common bean seeds to cowpea weevil. *Plant Physiol* **96**, 993-996.
- Hugh-Davis, R. (1991). Cyanogens. Toxic substances in crop plants. Ed. D'Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Cambridge: Royal.Soc.Chem 202-225.
- Irshad, M., Gillani, W. A., and Gul, F. (1991). Relative resistance in some wheat varieties/genetic lines to red flour beetle and lesser grain borer. *Pak.J.Agric.Res* **12**, 51-54.
- Ishimoto, M., and Kitamura, K. (1993). Specific inhibitory activity and inheritance of an α amylase inhibitor in a wild common bean accession resistant to the mexican bean weevil. *Japan.J.Breed* **43**, 69-73.
- Iulek, J., Franco, O. L., Silva, M., Slivinski, C. T., Bloch, C., Rigden, D. J., and de Sa, M. F. G. (2000). Purification, biochemical characterisation and partial primary structure of a new alpha amylase inhibitor from secale cereal. *Inter.J.Biochem.Cell Physiol* **32**, 1195-1204.

- Ivbijaro, M. F., Osisanya, E. O., and Akilande, E. E. (1979). The deterioration of commercial maize by insect and fungi. *Inter.Biodetrior.Bull* **15**, 75-76.
- Jaffe, W. G., and Seidl, S. (1992). Toxicology of plant lectins. *Food .Poisonning.Ed s. Decker. M.New York*, 263-290.
- Janzen, D. H., Juster, H. B., and Liene, I. E. (1976). Insecticidal action of phyto hemagglutinins in black beans on a bruchid beetle. *Sci* **192**, 795-796.
- Jennings, C., West, J., Waine, C., Craik, D., and Andersen, M. (2001). Biosynthesis and insecticidal properties of plant cyclotides : The cyclic knotted proteins from *Oldendia affinis*. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **98**, 10614-10619.
- Jood, S., Kapoor, A. C., and Singh, R. (1993). Biological evaluation of protein quality of sorghum as affected by storage and insect infestation.*Plant.Foods for Humain, Netherlands* **43**, 45-54.
- Jood, S., Kapoor, A. C., and Singh, R. (1996). Effect of insect infestation and storage on lipids of cereal grains *J. Agric. Food.Chem* **44**, 1502-1506.
- Jood, S., Schofield, J. D., Tsiami, A. A., and Bollecker, S. (2000). Effect of composition of gluthnin subfractions on rheological properties of wheat. *J.Food.Chemis* **24**, 275-298.
- Jourdheuil, P., Grison, P., and Fraval, A. (1992). La lutte biologique: un aperçu historique. *Dos.Cel.Envir., INRA* **5**, 511-535.
- Jouvensal, L., Quillien, L., Ferrasson, E., Rahbe, Y., Gueguen, J., and Vovelle, F. (2003). PA1b, an insecticidal protein extracted from pea seeds (*pisum sativum*). *J.Biochem* **42**, 11915-11923.
- Kadziola, A., Sogaard, M., Svensson, B., and Haser, R. (1998). Molecular structure of a barley alpha amylase inhibitor complex: Implication for starchbinding and catalysis. *J.Mol.Biol* **278**, 205-217.
- Kamel, A. H. (1980). Underground storage in some Arab countries. In:Controlled atmosphere storage of grains. *Eds. J. Shejbal Elsevier, Amsterdam*, 608 p.

- Khachatourians, G. K. (1986). Production and use of biological pest control agents. *Trends.Biotechnol* **4**, 120-124.
- Khare, B. P. (1990). Stored grain infestation by insects in North India. *Bull.Grain.Tech.* **3**, 1633-1638.
- Khattak, S. U., and Shafique, M. (1986). Varietal susceptibility studies of ten wheat cultivars flour to *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pak.J.Zool* **18**, 257-261.
- Khush, G. S. (2005). What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2003. *Plant. Mol. Biol* **59**, 1-6.
- Kimura, M., Ikeda, T., Fukumoto, D., Yamasaki, N., and Yonekura, M. (1995). Primary structure of cysteine proteinase inhibitor from the fruit of avocado (*Persea americana* Mill). *Biosc.Biotechnol.Biochemis* **59**, 2328-2329.
- Kogan, M. (1975). Plant resistance in pest management: Introduction to insect pest management. *Eds. Wiley, J and Sons. New York*, 103-146.
- Kossou, D. K., and Aho, N. (1993). Stockage et conservation des grains alimentaires tropicaux: Principes et pratiques. *Eds. Flamboyant, Cotonou, Bénin.*, 125 p.
- Kouassi, M. (2001). Les possibilités de la lutte microbiologique emphase sur le champignon entomopathogène *Beauveria bassiana*. *Rev.Sci.Env* **2**, 19 p
- Koul, O. (2004). Biological activity of volatile di-n-propyl disulfide from seeds of neem, *Azadirachta indica* (Meliaceae), to two species of stored grain pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst.). *J.Econ.Entomol* **97**, 1142-1147.
- Kouzuma, Y., Inanaga, H., Doi Kawano, K., Yamasaki, N., and Kimura, M. (2000). Molecular cloning and functional expression of cDNA encoding the cysteine proteinase inhibitor with three cystatin domains from sunflowers seeds. *J.Biochem* **128**, 161-166.
- Kozakiewicz, Z. (1994). Taxonomy: The key to Mycotoxin identification in food and feedstuffs. *Proceeding.Intern.Working. Stored.Prod.Prot* **2**, 999-1006.

- Labeyrie, V. (1967). Physiologie de la mère et état de la progéniture chez les insectes. *Bull.Biol.Fr.Belg* **101**, 13-71.
- Laemmeli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* **227**, 680-685.
- Laskar, N., and Ghosh, S. K. (2004.). Relative susceptibility of some wheat *Triticum aestivum* Desf. varieties against *Sitophilus oryzae* L. *Environ. Ecol* **22**, 411-413.
- Laskowski, M. J., and Kato, I. (1980). Protein inhibitors of proteinases. *Annu.Rev.Biochem* **49**, 593-626.
- Lasseran, J. C., and Fleurat-Lessard, F. (1990). Aeration of grain with ambient or artificially cooled air: A technique to control in temperate climates. *5th.Intern.Work.Conf. Stored.Prod.Protec, Bordeaux, France*, 1221-1231.
- Laviolette, P., and Nardon, P. (1963). Action des rayons gamma du cobalt 60 sur la mortalité et la fertilité des adultes d'un charançon du riz. *Bull.Biol.Fr.Belg* **97**, 305-333.
- Lee, R. E., Strong-Gunderson, J. M., Lee, M. R., Grove, K. S., and Riga, T. J. (1991). Isolation of ice nucleating active bacteria from insects. *J.Exp.Zool* **257**, 124-127.
- Lee, R. E., Strong-Gunderson, J. M., and Lee, M. R. (1992). Ice nucleating active bacteria decrease the cold hardiness of stored grain insects. *J .Econ.Entomol* **85**, 371-374.
- Lee, S. E., Lee, B. H., Choi, W. S., Park, B. S., Kim, J. G., and Campbell, B. C. (2001). Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Pest.Manag.Sci* **57**, 548-553.
- Lee, S., Peterson, C. J., and Coats, J. R. (2003). Post-harvest insect pests caused serious losses during product storage, reduction the quantity and/or quality of the stored products. *J Stored.Prod.Res* **39**, 77-85.
- Lepesme, P. (1944). Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. *Encyclo.Entomol.Ed.Lechevalier.Paris*, 336 p.

- Longstaff, B. C. (1981). Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae). *Rev.Prot.Ecol* **2**, 83-130.
- Louis, S., Delobel, B., Gressent, F., Duport, G., Diol, O., Rahioui, I., Charles, H., and Rahbé Y. (2007). Broad screening of the legume family for variability in seed insecticidal activities and for the occurrence of the A1b-like knottin peptide entomotoxins. *J.Phytochem* **68**, 521-535.
- Louis, S., Delobel, B., Gressent, F., Rahioui, I., Quillien, L., Vallier, A., and Rahbé, Y. (2004). Molecular and biological screening for insect-toxic seed albumins from legume species *Plant.Sci* **167**, 705-714.
- Mac Donald, N. Q., and Hendrickson, W. A. (1993). A structural superfamily of growth factors containing a cystine-knot motif. *Cell* **73**, 421-424.
- Mackay, P. J. (1976). Theory of moisture in stored produce. *Tropic.Stored.Prod* **13**, 9-14.
- Madrid, F. J., White, N. D. G., and Loshiavo, S. R. (1990). Insects in stored cereals and their association with farming practices in Southern Manitoba. *Can.Entomol* **122**, 515-523.
- Matthew, J., Broughton, N., and Dunkel, F. V. (1990). Interactions of genetic traits, agronomic conditions, and prior insect damage on post-harvest insect resistance in Montana hard wheat varieties. *Depart.Entomol.Montana.University.Bozeman*, 49 p.
- Matthew, J., Broughton, N., and Dunkel, F. V. (2006). Interactions of wheat variety, production environments and prior insects damage on post-harvest resistance to the lesser grain borer. *J.Econ.Entomol* **99**, 1826-1834.
- Matveef, M. (1966). Influence du gluten des blés durs sur la valeur des pâtes alimentaires. *Bull.ENSMIC, France* **213**, 133-138.
- Mazumdar Leighton, S., and Broadway, R. M. (2001). Transcriptional induction of diverse midgut trypsins in larval *Agrotis ipsilon* and *Helicoverpa zea* feeding on the soybean trypsin inhibitor. *Insect.Biochem.Mol.Biol* **31**, 645-657.
- Melo, F. R., Sales, M. P., Silva, L. S., Franco, O. L., Bloch, C. J., and Ary, M. B. (1999). Alpha amylase from cowpea seeds. *Prot.Pept.Lett* **6**, 387-392.

- Mendez, E., Rocher, A., Calero, M., Girbes, T., Citores, L., and Soriano, F. (1996). Primary structure of omega-hordothionin, a member of a novel family of thionins from barley endosperm, and its inhibition of protein synthesis in eukaryotic and prokaryotic cell-free systems. *Eur.J.Biochem* **239**, 67-73.
- Menon, A., Flinn, P. W., and Dover, A. D. (2002). Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Stored.Prod.Res* **38**, 463-469.
- Meynadier, G., Margier, A. A., Girardie, J., and Vago, C. (1992). Une entomopoxvirose chez l'orthoptère *Anacridium aegypticum*. *Entomophaga* **37**, 453-464.
- Mignon, J., Haubruge, E., and Gaspar, C. (1995). The use of low temperature and ice nucleating active bacteria against stored product insect pest. *Med . Fac. Landbouw. Rijkuniv.Gent* **60**, 977-984.
- Mignon, J., Haubruge, E., and Gaspar, C. (1996). Influence of thermal acclimatisation on the survival of *Sitophilus granarius* L. and *Oryzaephilus surinamensis* L. at low temperatures. *J.Zool. Netherlands* **46**, 317-325.
- Mills, J. T. (1990). Protection des grains et des graines oléagineuses stockées à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. *Minist.Approv.Serv.Agric.Cannada*. **1851**, 49 p.
- Mills, R. B. (1989). *Sitophilus zeamais* M. breeding in corns. *J.Kansas.Entomol.Soc* **62**, 416-418.
- Moreno, J., and Chrispeels, M. J. (1989). A lectin gene encodes the alpha amylase inhibitor of the common bean. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **86**, 7885-7889.
- Morton, R. L., Schroeder, H. E., Bateman, K. S., Chrispeels, M. J., Armstrong, E., and Higgins, T. J. (2000). Bean alpha-amylase inhibitor 1 in transgenic peas (*Pisum sativum*) provides complete protection from pea weevil (*Bruchus pisorum*) under field conditions. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **97**, 3820-3825.
- Multon, J. L. (1982a). Conservation et stockage des grains, des graines et produits dérivés. *Ed. Lavoisier, Paris*, 1155 p.

Références bibliographiques

- Mundy, J., Svendsen, I., and Hejgaard, J. (1983). Barley alpha amylase/subtilisin inhibitor. Isolation and characterization. *Carlsberg Res.commun* **48**, 81-90.
- Nawrot, J., Winiecki, Z., Szafraner, B., Malinski, E., and Harmatha, J. (1995). Search of natural antifeedant and attractants for stored product pest. *Proceeding. Intern. Forum. Stored.Prod.Strasbourg, French*, 149-164.
- Niewiada, A., Nawrot, J., Szafrank, J., Szafrank, B., Synak, E., Jelen, H., and Wasowicz, E. (2005). Some factors affecting egg laying of the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.). *J.Stored.Prod.Res* **41**, 544-555.
- Norton, G. (1991). Proteinase inhibitors.Toxic substances in crop plants. *Eds.D'Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Cambridge.Royal.Soc.Chem*, 68-106.
- Padin, S., Bello, G. D., and Fabrizio, M. (2002). Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. *J. Stored.Prod.Res* **38**, 69-74.
- Painter, R. H. (1951). Insect resistance in crop plants. *Ed.Mc Millan, New york*, 520 p.
- Parpentier, M., and Fouabi, K. (1988). Céréales en régions chaudes: Conservation et transformation. *Coll.Intern.Technol.Cameroun*, 353 p.
- Paulian, R. (1988). Biologie des coléoptères. *Eds. Lechevalier, Paris*, 719 p.
- Pernas, M., Sanchezmonge, R., Gomez, L., and Salcedo, G. (1998). A chestnut seed cystatin differentially effective against cysteine proteinases from closely related pests. *Plant Molec.Biol* **38**, 1235-1242.
- Petit, J., Duport, G., Rahbé, Y., Guiderdoni, E., and Breitler, J. C. (2005). Pea albumin 1b (PA1b), an entomotoxic cystein-rich peptide protects transgenic rice seeds against the stored product pest *Sitophilus oryzae*. *Rice Genetics* **5**, 18-26.
- Petterson, D. S., Harris, D. J., and Allen, D. G. (1991). Alkaloids. Toxic substances in crops plant. *Ed.D'Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. Cambridge.Royal.Soc.Chem*, 145-179.

- Peumans, W. J., and Van Damme, E. J. M. (1995). Lectins as plant defense proteins. *Plant.Physiol* **109**, 347-352.
- Pfohl-leszkowicz, A., Gastegnaro, M., Bedouret, S., Molinie, A., Bony, M., Le Boulch, V., Thisse, M., Dunnigan, P., and Seng, J.M. (2001). Contribution à l'amélioration de la qualité sanitaire du blé en cours de stockage : Suivi de la formation des mycotoxines de stockage. *Rev.Phyt.Def.Veg* **541**, 24-30.
- Piasecka, K. D., Gawlak, M., Niewiada, A., Nawrot, J., Warshalewski, J. R., Fornal, J., and Grundas, S. (2005.). An effect of chemical properties of three wheat grain varieties on feeding intensity and developmental parameters of the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.). *Progr. Plant. Prot* **45**, 982-985.
- Pillemer, E. A., and Tingey, W. M. (1978). Hooked trichomes and resistance of *Phaseolus vulgaris* to *Empoasca fabae*. *Entomol.Experim.Appli* **24**, 83-94.
- Pointel, J. G. (1980). Le pourcentage de perte en poids et la perte spécifique, critère d'évaluation des dégâts causés par les insectes dans les céréales et les légumineuses. *Arew.Zool.* **66**, 185-198.
- Polhill, R. M. (1981). Papilionoideae. In: Advances in legume systematics. *Eds.Polhill, R.M and Raven, J.A, Kew: Royal Botanical Gardens* **1**, 192-208.
- Pretheep-Kumar, P., Mohan, S., and Ramaraju, K. (2004). Protein-enriched pea flour extract protects stored milled rice against the rice weevil, *Sitophilus oryzae*. *J.Insect. Sci* **4**, 26-32.
- Pusztai, A., Bardocz, G. G. S., Alonso, R., Chrispeels, M. J., Schroeder, H. E., Tabe, L. M., and Higgins, T. J. V. (1999). Expression of the insecticidal bean alpha amylase inhibitor transgene minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J.Nutr* **129**, 1597-1603.
- Rahbé, Y., Febvay, G., and Kermarrec, A. (1988). Foraging activity of the attine ant *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera: Formicidae) on resistant and susceptible yam varieties. *Bull.Entomol.Res* **78**, 329-337.

- Rahioui, I., Laugier, C., Balmand, S., Da Silva, P., Rahbé, Y., and Gressent, F. (2007). Toxicity, binding and internalization of the pea-A1b entomotoxin in Sf9 cells. *J.Biochem* **89**, 1539-1543.
- Rajendran, S., and Muralidharan, N. (2005). Effectiveness of allyl acetate as a fumigant against five stored beetle pests. *Pest.Manag.Sci* **61**, 97-101.
- Ramoska, W. A. (1984). The influence of relative humidity on *Beauveria bassiana* infectivity and replication in the ching bug, *Blissus leucopterus*. *J.Invertebr.Pathol* **43**, 189-194.
- Rees, D. P. (1996). Coleoptera. In: Integrated management of insects in stored products. *Ed.Subramanyam, B and Hagstrum, D.W. Marcel Decker Inc., New York*, 1-39 p.
- Rehman, Z.U., (2006). Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. *J. Food.Chem* **95**, 53-57.
- Richard, E., Lee, J. R., Marcia, R., Lee, M. R., and Strong-Gunderson, J. M. (1992). Insect cold hardiness and ice nucleating active microorganisms including their potential use for biological control. *Insect. Physiol* **39**, 1-12.
- Richardson, M. (1991). Seed Storage Proteins -The enzyme Inhibitors. *Plant Biochem* **5**, 259-305.
- Rogers, B. L., Pollock, J., Klapper, G., and Griffith, I. J. (1993). Sequence of the proteinase-inhibitor cystatin homologue from the pollen of *Ambrosia artemisiifolia*. *Gene* **133**, 219-221.
- Rosenthal, G. A. (1991). Non protein amino acids as protective allelochemicals. In Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites. *Eds.Rosenthal, G.A and Berenbaum, M.R., New york* **1**, 1-34.
- Ryan, C. A. (1990). Protease inhibitors in plants: Genes for improving defences against insect and pathogens. *Annu.Rev.Phytopathol* **28**, 425-449.
- Sadli, F. (1992). Stratégie d'amélioration de la valeur d'utilisation des blés en Algérie. *Doc.Inst.Techn.Grand.Cult, Alger*, 16 p.

- Saik, J. E., Lacey, L. A., and Lacey, C. M. (1990). Safety of microbial insecticides to vertebrates-domestic animals and wildlife. In: Safety of microbial insecticides. *Ed. Laird, M., Lacey, L.A and Davidson, E.D., Florida*, 116-130.
- Saljoqi, A. U. R., Afridi, M. K., Sajjad, A., and Abdur, R. (2002). Relative resistance of some wheat cultivars to *Sitophilus oryzae* L. in stored wheat grains. *Sarhad.J.Agric* **18**, 237-240.
- Sarin, K., and Sharma, K. (1983). Study on antibiosis in wheat varieties. Part I. Correlation of diapause and growth index. *Bull.Grain.Tech* **21**, 24-30.
- Schiffers, B. C., Haubruge, E., Mahaut, T., and Detraux, M. (1990). Le point sur les méthodes de lutte contre les ravageurs des grains entreposés en Belgique. *Parasitica* **46**, 121-144.
- Schimoler O' Rourke, R., Richardson, M., and Selitrennikoff, C. P. (2001). Zeamatin inhibits trypsin and alpha amylase activities. *Appl.Environ.Microbiol* **67**, 2365-2366.
- Schroeder, H. E., Gollash, S., Moore, A., Tabe, L. M., Craig, S., Hardie, D. C., Chrispeels, M. J., Spencer, D. C., and Higgins, T. J. V. (1995). Bean alpha amylase inhibitor confers resistance to pea weevil (*Bruchus pisorum*) in transgenic peas (*Pisum sativum*). *Plant Physiol* **107**, 1233-1239.
- Schultz, J. C. (1988). Many factors influence the evolution of herbivore diets, but plant chemistry is central. *Ecology* **69**, 896-897.
- Sharma, R. K. (2000). Studies on relative resistance of some maize varieties to *Sitophilus oryzae* (L.). *Ann.Agric.Res* **21**, 145-147.
- Sharma, R. P., Mohamad, M., Paul, S. K., Amitava, B., and Maity, S. (2005.). Susceptibility of different varieties of wheat against *Sitophilus oryzae* L.(Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Ecol* **23**, 90-91.
- Shewry, P. R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. *J.Cereal.Sci* **46**, 239-250.

- Sigaut, F. (1980). Significance of underground storage in traditional systems of grain production. In controlled atmosphere storage of grain. *J. Shejbal. Eds. Elsevier. Amsterdam*, 608 p.
- Silhacek, D., and Murphy, C. (2006). A simple wheat germ diet for studying the nutrient requirements of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hubner.). *J. Stored. Prod. Res* **42**, 427-437.
- Starnes, R. L., Liu, C. L., and Marone, P. G. (1993). History, use and future of microbial insecticides. *American. Entomol* **39**, 83-91.
- Steffan, J. R. (1978). Description et biologie des insectes. Les insectes et acariens des denrées stockées. *Eds. AFNOR et ITCF, Paris*, 3-62.
- Steigerwald, K. A., Lee, M. R., Lee, R. E., and Marshall, J. C. (1995). Effect of biological ice nucleators on insect supercooling capacity varies with anatomic site of application. *J. Insect. Physiol* **41**, 603-608.
- Su, H. C. F., Speirs, R. D., and Mahany, P. G. (1972). Toxic effects of soybean saponin and its calcium salt on the rice weevil. *J. Econ. Entomol* **65**, 844-847.
- Suchet, P. (1995). Influence du nettoyage et de la préparation des blés sur la qualité sanitaire des produits de mouture. *Rev. Indus. Céréale* **91**, 18-26.
- Taylor, W. G., Fields, P. G., and Elder, J. L. (2004). Insecticidal components from field pea extracts: Isolation and separation of peptide mixtures related to pea albumin 1b. *J Agric. Food. Chem* **52**, 7491-7498.
- Terras, F. R., Eggermont, K., Kovaleva, V., Raikhel, N. V., Osborn, R. W., Kester, A., Rees, S. B., Torrekens, S., Van Leuven, F., and Vanderleyden, J. (1995). Small cystein rich antifungal protein from radish: their role in host plant defense. *Plant Cell*. **7**, 573-588.
- Thakore, Y., (2006). The biopesticide market of global agricultural use. *J. Indus. Biotech* **2**, 194-208.
- Thoumy, V. (1995). Functional properties of protein extracted from wheat flour after chemical or enzymatic modification. *Th. Doct. Univ. Bordeaux*, 187 p.

- Toms, G.C., and Western, A. (1971). Phytohemagglutinins. Chemataxonomy of the leguminosae. *Eds.Harbone, J.B. Boulter, D.Turner, B.L.New York*, 376-462.
- Trematerra, P., Fontana, F., Mancini, M., and Sciarretta, A. (1999). Influence of intact and damaged cereal kernels on the behaviour of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored.Prod.Res* **35**, 265-276.
- Tripathi, A. K., Sutherland, D. H., Olson, D. J., Ross, A. R., and Fields, P.G. (2002). Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* (var.ch-66) on three species of stored product beetles (Coleoptera). *J .Econ.Entomol* **95**, 183-189.
- Valoon, J. B. (1984). Lutte contre les ravageurs et les parasites du grain entreposé.In: Céréales et oléagineux, manutention, commercialisation, transformation. *Eds.Inst.Intern. Grain. Manitoba* **8**, 261-291.
- Vaublanc, G. V. D. (2001). Histologie de l'appareil digestif de *Sitophilus oryzae* après intoxication par une protéine du pois PA1b. *Th. Master. Univ. Cathol. Lyon-France.*, 36 p.
- Vayssière, M. P. (1943). Le charançon du riz et les légumes secs. *CR. Acad. Afr. Fr* **29**, 449-450.
- Walsh, T. A., and Strickland, J. A. (1993). The 85-kd crystalline cysteine protease inhibitor from potato contains 8 cystatin domains. *Protein Engineering* **6**, 53-56.
- Warchaleswski, J.R., Grailik, J., Winiecki, Z., Nawrot, J., and Piasecka-Kwiatkowska, D., (2002). The effect of wheat α amylase inhibitors incorporated into wheat-based artificial diets on development *Sitophilus granarius* L., *Tribolium confusum* Duv., and *Ephestia kuhniella* Z. *J.Appl.Entomol* **4**, 161-168.
- Weston, P. A., and Rattigourd, P. L. (2000). Progeny production by *Tribolium castaneum* (Coleoptera:Tenebrionodae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Sylvanidae) on maize previously infested by *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera:Gelichiidae). *J .Econ.Entomol* **93**, 533-536.
- White, N. D. G. (1995). Insects, mites and insecticides in stored grain ecosystems. In: Stored grain ecosystems. *Ed.Marcel Dekker, New York, USA*, 123-168 p.

- Wicker, C. (1984). Etudes d'interactions nutritionnelles et enzymatiques entre *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) et les bactéries symbiotiques intracellulaires. *Th.Doct.INSA.Lyon*, 195 p.
- Wink, M. (1985). Chemische verteidigung der lupinen: Zur biologischen beteutung der chinolizidinalkaloide. *Plant System.Evol* **150**, 65-81.
- Woodhead, S., and Chapman, R. F. (1986). Insect behaviour and the chemistry of plant surface waxes.In: Insect and the plant surface. *Eds.Juniper, B. and Southwood, T.R.E., London*, 123-135.
- Woolley, J. G. (2001). Plant alkaloids. In: Encyclopedia of life science. www.els.net, *Nature publishing group*, 1-11.
- Xavier-Fhilo, J., Campos, F. A. P., Ary, M. B., Peres-Silva, C., Carvalho, M. M., Macedo, M. L. R., Lemos, F. J. A., and Grant, G. (1991). Poor correlation between the levels of proteinase inhibitors founds in seeds of differents cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the resistance susceptibilty of predation by *Callosobruchus maculatus*. *J.Agric.Food.Chem* **37**, 1139-1143.
- 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* **62**, 978-985.
- Zhao, Y., Botella, M. A., Subramanian, L., Niu, X. M., Nielson, S. S., Bressan, R. A., and Hasegawa, P. M. (1996). Two wound-inducible soybean cysteine proteinase inhibitors have greater insect digestive proteinase inhibitory activities than a constitutive homolog. *Plant Physiol* **111**, 1299-1306.
- Zhu, K., Huesing, E. J., Shade, R. E., and Murdock, L. L. (1994). Cowpea trypsin inhibitor and resistance to cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea variety " TVu2027". *Environ. Entomol* **23**, 987-991.

Annexe

1- Milieu Oxytétracycline Gélose Agar (OGA)

Extrait de levure déshydraté	5,0 g
Glucose	20,0 g
Agar –agar	16 g
Eau	1000 ml

Diluant :

Peptone	1,0 g
Nacl	8,5 g
Eau	1000 ml

Solution d'oxytétracycline :

Oxytétracycline	0,1 g
Eau	100 ml

2- Milieu Berlese-Faure

Eau distillée	50 ml
Hydrate de chloral	50 g
Glycerol	20 ml
Gomme arabique	30 g

3- Milieu King B

Protéose peptone	20 g
Phosphate dipotassique	1,5 g
Sulfate de magnésium	1,5 g
Glycérol	10 ml

4- Solutions Carrez

- Carrez I :

Acétate de zinc	21,9 g
Acide acétique glacial	3,0 g

- Carrez II :

Ferrocyanure de potassium	10,6 g
---------------------------	--------

5- Solution Fuschine

Acide fuschinique	0,5 g
Eau distillée	1 l

Application d'une protéine entomotoxique PA1b du pois et d'un agent entomopathogène contre *Sitophilus granarius* L.

Résumé

L'étude de la bio détérioration du blé stocké dans la région de Sétif, a révélé une température de 25°C et une teneur en eau du grain de 14,5% supérieures à la norme de stockage. Aussi, la présence de moisissures, à savoir *Alternaria* sp, *Rhizopus* sp et *Cladosporium* sp; d'un acarien *Cheyletus eruditus* et d'insectes *Sitophilus granarius*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum* et *Ephestia Kuhniella*. L'évaluation de la sensibilité du blé dur, blé tendre, orge, maïs et riz au *S.granarius* et *R.dominica*, a montré que les lipides et la cellulose, ont un effet significatif sur le potentiel biotique des deux ravageurs. De plus, le comportement de 12 variétés de blé tendre au charançon du grain, a indiqué une corrélation significative positive entre l'indice de croissance et la teneur en protéine et, est significativement négative avec la teneur en glucide. Trois groupes de variétés ont été identifiés : Les variétés sensibles (Siete ceros, Arfort, Mahon demias, Hidhab), les variétés moyennement sensibles (Aïn Abid, Orion, Anza, Marchouche, Sleab) et les variétés résistantes (Arz, Porencio, Binova). Toutes les légumineuses testées sont toxiques au *S.granarius* L mais à des taux variables. La protéine PA1b du pois a provoqué une mortalité de 100% pendant 7 jours à une concentration de 10%. Des taux de mortalités de 73% et 93% ont été atteints à des concentrations de 0,1% et 1% respectivement. Par contre, les taux sont faibles ne dépassant pas le seuil des 20% de mortalité à 0,001% et 0,01% de concentrations. De plus, les homologues de PA1b du haricot, pois chiche, lentille et fève ont engendré une mortalité totale de l'insecte au bout de 14 jours à des concentrations de 1% et 10%. L'effet gel nucléant de *P.syringae* se manifeste très bien sur *S.granarius* à 0°C, dès la dose de 2.10^5 cfu/ml, avec un taux de mortalité de 73,6%. Ce taux atteint 100%, à la dose de 4.10^7 cfu/ml. Cette dernière ne provoque que 84.8% de mortalité à 5°C. Par contre à 10°C, l'effet est faible ne dépasse pas 20% de mortalité.

Mots clés : Biodétérioration, blé stocké, région de Sétif, sensibilité, *S.granarius*, contrôle, entomotoxine PA1b, *P.syringae*.

Application of pea-A1b entomotoxin and entomopathogenic agent against *Sitophilus granarius* L.

Abstract

The study of the biodeterioration of stored wheat in Sétif region has revealed the temperature of 25°C and water content in the grain is of 14.5% which are higher than the storage norm. Also, the presence of moulds, such as *Alternaria sp*, *Rhizopus sp* and *Cladosporium sp*, the dust mite *Cheyletus eruditus* and the insects *Sitophilus granarius*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, and *Ephestia Kuhniiella*. The susceptibility assessment of durum and soft wheat, barley, corn, and rice in *S.granarius* and *R.dominica*, has shown that the lipids and cellulose have a significant effect on the two biotique potential pests. Furthermore, the behaviour of 12 varieties of soft wheat and grain weevil has indicated a significant positive correlation between the growth index and protein content which is significantly negative with carbohydrate content. Three variety groups were identified: the susceptible varieties (Siete ceros, Arfort, Mahon demias, Hidhab), the moderate susceptible varieties (Ain Abid, Orion, Anza, Marchouche, Sleab) and the resistant varieties (Arz, Porenco, Binova). All leguminous plant that were tested are toxic to *S.granarius* L, but with variable rates. The proteine PA1b of peas has caused a mortality of 100% during 7 days with a concentration of 10%. Mortality rates of 73% and 93% were achieved with concentration of 0.1% and 1% respectively. Whereas, the rates are weak and don't exceed the threshold of 20% of morality at 0.001% and 1% of concentration. The homologous of PA1b of beans, chickpeas, lentils, and broad beans have engendered a total moratality of the insect after 14 days with concentration of 1% and 10%. The effect of nucleating gel of *P.Syringae* appears very well on *S.granarius* at 0°C, from a dose of 2.105 cfu/ml with a mortality rate of 73, 6%. This rate achieves 100% at a dose of 4.107 cfu/ml. This latter engenders only a rate mortality of 84.8% at 5°C. In the other hand, at 10°C the effect is weak and don't exceed 20% of mortality.

Key words: Biodétérioration, stored wheat, Sétif region, susceptibility, *S.granarius*, control, entomotoxin PA1b, *P.syringae*.

تطبيق احد بروتينات البازلاء السام للحشرات (PA1b) و احد العوامل الممرضة للحشرات ضد سوسة القمح *Sitophilus granarius* L.

ملخص

كشفت دراسة التلف الحيوي للقمح المخزن في منطقة سطيف، عن درجة حرارة 25°س و محتوى الماء في الحبة قدره 14,5 % تفوقان معيار التخزين. وكذا وجود فطريات *Alternaria sp*، *Rhizopus sp* و *Cladosporium sp*؛ قرادية *Cheyletus eruditus* و حشرات *Sitophilus granarius*، *Rhyzopertha dominica*، *Tribolium castaneum* و *Ephestia Kuhniella*. تم تقويم حساسية القمح الصلب، القمح اللين، الشعير، الذرى و الأرز بـ *S.granarius* و *R.dominica* وأظهر أن الليبيدات و السيليلوز، لهما أثر معنوى علي الطاقة الحيوية للمدمرين. فضلا عن ذلك فإن سلوك ال:12 نوعا من القمح اللين بسوسة القمح قد أشار إلى وجود علاقة مهمة و ايجابية بين معامل النمو و محتوى البروتين و هي سلبية جدا مع محتوى الغلوسيد. تم تعيين ثلاث مجموعات من الأصناف : الأصناف الحساسة (Siete ceros، Arfort، Mahon demias، Hidhab)، الأصناف متوسطة الحساسية (Ain Abid، Orion، Anza، Marchouche، Sleab) و الأصناف المقاومة (Arz، Binova، Porengo).

إن البقوليات المختبرة سامة على *S.granarius* L لكن بنسب متغيرة. تسبب البروتين PA1b للباذلاء بموته بنسبة 100 % خلال 7 أيام بتركيز 10 % . نسب موت قدرها 73 % و 93 % بتأثير تراكيز 0,1 % و 1 % على التوالي. في المقابل، تعتبر النسب ضعيفة حيث لا تفوق عتبة 20 % بتراكيز 0,001 % و 0,01 % . أحدثت نظائر PA1b للفاصوليا و الحمص و العدس و الفول موت كلي للحشرة خلال 14 يوما بتراكيز 1 % و 10 % . يتجلى تأثير المجدد النووي (الجيل) *P.syringae* بوضوح على *S.granarius* بنسبة موت قدرها 73,6 %، عند درجة حرارة 0°س و جرعة 2.10⁵ cfu/ml. تبلغ هذه النسبة 100 % عند جرعة 4.10⁷ cfu/ml. هذه الأخيرة لا تتسبب إلا في 84.8 % من موت عند درجة حرارة 5°س. غير أنه عند درجة حرارة 10°س فان المفعول ضعيف و لا يتجاوز 20% من الموت .

كلمات مفتاحية:

التلف الحيوي ، القمح المخزن ، منطقة سطيف ، الحساسية ، سوسة القمح *S.granarius*، المراقبة، السام للحشرات PA1b ، *P.syringae*

Articles

Journal of Agronomy 8 (2): 60-66, 2009

ISSN 1812-5379

© 2009 Asian Network for Scientific Information

Biochemical Composition Effect of the Some Cereal Species' on the Behaviour of *Sitophilus granarius* L. and *Rhyzopertha dominica* F. Species in Semi-Arid Zone of Setif, Algeria

¹A. Mebarkia, ¹A. Guechi, ²S. Mekhalif and ³M. Makhoulf

¹Laboratory of Plant Protection, Department of Agronomy,

²Laboratory of Biochemistry, Department of Biology,

Faculty of Sciences, Ferhat Abbas University, Setif, Algeria

³Agricultural Experimental Station of the Field Crop Institute, Setif, Algeria

Abstract: The aim of this study is the effect of the trophic medium on the biotic potential of the two species, *Sitophilus granarius* L. and *Rhyzopertha dominica* F. and the relationship between biological observations and the quantitative loss induced by the development of insects. The quality and sensibility of cereals influential the behaviour of the 2 pests. The average descent was influenced by the cereal type. Therefore, in specific mono-population, the average emergence per day, for the corn, varies from 0.61 for *S. granarius* L. to 0.12 for *R. dominica* F.; on the other hand for the soft wheat, it varies from 4.35 to 5.81, respectively. Whereas, in hetero-specific population, sensibility of the various cereals types to the attacks by *R. dominica* F. increases in the presence of *S. granarius* L., for an initial rate of infestation of 2 couples. The reverse was observed if the rate of infestation was doubled. The longest duration of development was observed for the corn with 40 and 55 days for *S. granarius* L. and *R. dominica* F., respectively. Shortest was recorded for the rice with 28 and 42 days for both. The highest loss of dry matter, in soft wheat with 4.74 and 6.09% for *R. dominica* F. and *S. granarius* L., respectively, while in corn was less than 1%.

Key words: Cereals, biochemical compositions, sensibility of grain, dry matter losses, behaviour, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus granarius*

INTRODUCTION

Cereals are the major source of dietary protein for humans. The mean annual production in the world (2001-2005) of all cereals exceeded 2100 million tones (Shewry, 2007).

Cereal grain losses during the storage can reach 50% of total harvest in some countries, a worldwide loss equivalent to thousands of millions of Euros per year (Fornal *et al.*, 2007). The major part of this quantity and quality loss of grain, is caused by insects (Madrid *et al.*, 1990; White, 1995; Lee *et al.*, 2003; Fornal *et al.*, 2007), because they have become cosmopolitan since humans began harvesting and storing (Padin *et al.*, 2002).

The very serious primary pest of stored grain product are the granary weevil, *Sitophilus granarius* L. (Rees, 1996) and the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* F. (Menon *et al.*, 2002). The granary weevil larvae feed and develop into the kernels (Niewiada *et al.*, 2005); while the lesser grain borer inside the kernels (Arthur, 2004). Also, during the grain storage, the

infestation by pest follow a theoretical schema accepted by most of the storage entomologists: attacks by primary results in important alterations in the external coat seeds, which predispose seeds to damage by less dangerous secondary pests. Investigation have revealed that all the stored grain pest exhibit the phenomena of preference/non preference for the grains of different varieties (Irshad *et al.*, 1991). Moreover, several research tasks were the subject of the study of the alimentation modulation of the activity of the purified enzymes starting from the insects by the natural inhibitors existing in cereals; in order to find preferred and responsible alimentation for the development of these pests (Baker *et al.*, 1991; Baker, 1992; Feng *et al.*, 1996). Also, the wheat represents a particular technological importance, because it was the only cereal which contains the gluten with the plastic characteristics, allowing the manufacture of several foodstuffs (Thoumy, 1995). Thus, the physico-chemical characters of medium and alimentation have a great importance for the development of the insects of stored grains. Keeping in view, the importance of the problem, we are seeking new

Corresponding Author: A. Mebarkia, Laboratory of Plant Protection, Department of Agronomy, Faculty of Sciences, Ferhat Abbas University, Setif, Algeria

approaches based upon the effect of the trophic medium on the biotic potential of the two species, *S. granarius* L. and *R. dominica* F. placed separately or in competition. We also report, the relationship between biological observations and the quantitative loss induced by the development of the insects during only one generation. Aim of this study is to understand the phenomenon of preference/non preference for the grain of different cereals and to evaluate their susceptibility/resistance to *S. granarius* L. and *R. dominica* F. for the development of durable resistance against pests.

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out at the Plant Protection Laboratory of Setif University during 2004 to 2006. The durum wheat (*Triticum durum*) grains (Vitron), soft wheat (*Triticum aestivum*) (Hidhab), barley (*Hordeum vulgare*) (Pleasant), corn (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*) ordinary are taken from the Agricultural Experimental Station of the Field Crop Institute (ITGC), Algeria. Two insect species (*S. granarius* L. and *R. dominica* F.) were used. Of each cereal, 80 g were put in plastic box (5×10 cm), infested by *S. granarius* L. and *R. dominica* F. in the following way (Farjan, 1983). In mono-specific population (4 couples of each species) and in hetero-specific population (4 couples and 2 couples of each species separately). Four replications were carried out for each treatment. The breeding enclosures were placed in a room at a constant temperature of 30±5°C and 70±2% of relative humidity (Golebiowska, 1969). So, the adult insects which were used for the infestation were isolated after 12 days from egg-laying and the grains left again under the same conditions until the adults of the second generation start to emerge (Delobel and Tran, 1993). The enumeration of the adults was made twice per week until the stop of emergences. The criteria observed initially are the average number of descendant, according to the Adams and Schulten (1978) method's the average duration of development and the dry matter loss. Then, we sought the effect of certain nutritional substances in the cereal grains by biochemical analysis such as protein, cellulose, carbone and lipids (Godon and Loisel, 1984). Obtained data were subjected by using GenStat software version 11.1.0.1557-2008.

RESULTS AND DISCUSSION

Viable average descent by female

Influence vegetable species on the descent of the 2 species: We used this criterion to estimate the susceptibility of various cereals to the attack by the 2

studied species. According to Table 1, it is clear, that the average descent of the two species is significantly influenced by the type of cereal. In specific mono-population, average emergence per day, for the corn, varies from 0.61 for *S. granarius* L. to 0.12 for *R. dominica* F., on the other hand, for soft wheat, it varies from 4.35 to 5.81, respectively.

In this knowledge, we note that the barley grain covered of its cellulose envelopes unfavourable at the weevil. Whereas, it does not seem to be a disadvantage for *R. dominica* F. It is the reverse, which occurs for the rice but it is also the cereal lowest in nitrogen matter. This results are in correlation with workings of Faroni and Garcia-Maria (1992), that noted as duration of embryogenesis, larval stages, nymphals and the number of eggs laid varies in depending on the conditions of temperature, relative humidity and the nature of cereal. The Friedman test of discrimination and classification makes it possible to highlight significant differences the threshold in 5% of error between cereals for the two species of insects ($\chi^2 = 14.61$ for *R. dominica* F. and $\chi^2 = 12.33$ for *S. granarius* L.).

For *R. dominica* F., the average descent by female per day varies with the various cereals, which can be classified by the Kramer test in 2 groups with the threshold of error of 5% (GenStat Eleventh Edition):

- The group with corn whose average descent by female and day varies from 0.08 at 0.16
- The group consisted with durum wheat, soft wheat, barley and the rice of which the average descent by female and day lies between 1.3 and 5.8

For *S. granarius* L., the same test enables us to form three groups of cereals according to the number of emerged insects (GenStat Eleventh Edition):

- The corn with which the viable average descent varies from 0.37 to 0.61
- The group formed by durum wheat, the barley and rice where the viable average descent varies from 2.3 to 3.9
- The soft wheat where the viable average descent is higher than 3.9

Thresholds of significance differences (at $p = 0.05$) between cereals proposed in comparison with the corn reference cereal, show that *S. granarius* L. and *R. dominica* F. are no significance differences for durum wheat, corn and rice; but for soft wheat we note highly significance differences for grain weevil and significance differences for lesser grain borer.

Influence of the co-existence of *S. granarius* L. and *R. dominica* F.: The sensitivity of the various types of cereals to the attacks by *R. dominica* F. increases in the presence of *S. granarius* L., for an initial rate of infestation of two couples of *S. granarius* L. and two couples of *R. dominica* F. by 80 g; but the inverse phenomenon is observed, *R. dominica* F. decreases in the presence of *S. granarius* L. if the rate of infestation is doubled (Table 1). Hence, the average descent of *S. granarius* L. is not significantly affected by the presence of *R. dominica* F. Weston and Rattinour (2000), showed that the effects on infestation of maize by *Sitotroga cerealella* O. on progeny production by two common secondary colonizers of grain, *Tribolium castaneum* H. and *Oryzaephilus surinamensis* L. reached highest numbers. The statistical analysis by the Friedman test support this observation ($\chi^2 = 9.33$). It involves the fact that the interaction between these two species is favourable for *R. dominica* F. to a density of an insect by 10 g. Under these conditions, it seems that the holes of alimentation of the adults of *S. granarius* L. facilitate the penetration of the larva of the first and possibly of the second stage of *R. dominica* F. inside the grain. Thresholds of significance difference (at $p = 0.05$) of the interaction between the monospecific and heterospecific populations of *S. granarius* L. and *R. dominica* F. show that for lesser grain borer, no significance differences for one population of 4 couples and 2 couples; for grain weevil, highly significance differences for one population of 4 couples.

Therefore, larval mortality could be considerably reduced. The reduction in the number of adults emerged with a double rate of infestation can be explained by a competition between the females of the 2 species for the research of the site of egg-laying and an increase in consecutive larval mortality. In the same sense, Giga and Canhao (1993) showed the effects of intraspecific and interspecific competition between *Prostephanus truncatus* H. and *Sitophilus zeamais* M. in maize at 25 and 30°C and the reproduction curves were different in form. Both species were adversely affected by competition interactions. Moreover, Danho *et al.* (2000) confirmed that there was a real competition between the lesser grain borer and the maize weevil. These results showed that the larger grain borer damaged indiscriminately both infested and uninfested grains. Therefore, the deterrent effect of *S. zeamais* M. against *P. truncatus* H. was also associated with the existence of substances deposited on the grain surface by adult weevils.

Average duration of development: Analysis of results in Table 2 shows that the average duration of development varies according to the type of cereal. The longest duration of development is observed for the corn with 40 and 55 days for *S. granarius* L. and *R. dominica* F., respectively. The shortest duration is recorded for the rice with 28 and 42 days for the 2 species. According to Trematerra *et al.* (1999), the kernels of cereals affects the behaviour of *S. oryzae* L. and explained that the

Table 1: Average progeny by female and per day according to the type of cereal (30°C and 14% of water content)

Cereals	Populations					
	Monospecific		Heterospecific			
	<i>S. granarius</i> (4 couples)	<i>R. dominica</i> (4 couples)	<i>S. granarius + R. dominica</i> (2 couples + 2 couples)		<i>S. granarius + R. dominica</i> (4 couples + 4 couples)	
Durum wheat	3.71	3.02	2.40	4.08	2.25	2.20
Soft wheat	4.35	5.81	4.47	5.24	3.89	4.02
Barley	2.36	5.29	3.09	8.06	2.35	4.81
Corn	0.61	0.12	0.43	0.16	0.37	0.08
Rice	3.86	1.89	2.45	1.86	3.06	1.30

Table 2: Average duration of development in days of *S. granarius* L. and *R. dominica* F. according to the type of cereal

Cereals	Populations					
	Monospecific		Heterospecific			
	<i>S. granarius</i> (4 couples)	<i>R. dominica</i> (4 couples)	<i>S. granarius + R. dominica</i> (2 couples + 2 couples)		<i>S. granarius + R. dominica</i> (4 couples + 4 couples)	
Durum wheat	30.1	44.3	30.80	44.5	29.30	45.6
Soft wheat	35.3	49.2	35.00	49.5	36.25	49.7
Barley	31.2	47.0	34.30	48.6	31.70	46.4
Corn	40.4	55.1	40.50	57.5	40.50	55.6
Rice	27.9	42.2	28.63	43.6	28.10	42.7

cereals are attractive in different ways; naturally dehulled and hulled cereals release volatile substances once artificially dehulled or split. Thus, in order of decreasing attraction are: the germ part, the kernel endosperm without the germ, the kernel pericarp layers, etc. Recently, Giacinto *et al.* (2008) showed that the antennae of *S. granarius* L. adults detect the odor blend such as, aliphatic alcohols, aldehydes, ketones and aromatics of various cereal grains. The statistical analysis by the Friedman test using GenStat eleventh edition, gave significant results between the durations of development observed for the five cereals tested ($\chi^2 = 14.61$; $\chi^2_{0.05} = 12.59$ for *S. granarius* L. and $\chi^2 = 13.09$; $\chi^2_{0.05} = 12.59$ for *R. dominica* F. The analysis of the significant differences by the Kramer test, enable us to distinguish with the threshold from error from 5%, three groups from cereals for the weevil and only two groups for the lesser grain borer from the grains:

- For *S. granarius* L.: First group (rice); second group (soft wheat, barley and durum wheat); third group (corn)
- For *R. dominica* F.: First group (rice, soft wheat, barley and durum wheat); second group (corn)

Also, thresholds of significance differences at ($p = 0.05$) recorded on the average duration of the development when *S. granarius* L. and *R. dominica* F. are nourished from various cereals in comparison with rice as reference cereal, show that for lesser grain borer and grain weevil, no significance differences for durum wheat, soft wheat and barley; very highly significance differences for the corn. These results show that the classification of the development duration according to vegetable species was appreciably same whatever the species. So, we sought the effect of certain nutritional substances on the development and the average descent by female. According to Silhacek and Murphy (2006), the growth rates of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* H., on different cereal products varies widely indicating product related differences in nutrient availability for the insects. For that, the biochemical analysis in the cereal grains were carried out (Table 3). Possible combinations two by two of the content of some nutrients were analyzed by the method of the multiple correlations. Consequently, it proved that 2 substances act significantly on the biotic

performances of the two species to knowing the lipid content and cellulose. The influence of the two factors over the development duration results in the 2 significant curves of equations:

$$Z_1 = 3.71x + 1.02y + 34.72$$

$$Z_2 = 3.53x + 0.68y + 21.57$$

For which Z_1 and Z_2 are the development duration of *R. dominica* F. and *S. granarius* L., respectively expressed in day; x and y being lipid contents and of cellulose, respectively (coefficient of correlation $r^2 = 0.75$ for *R. dominica* F. and $r^2 = 0.66$ for *S. granarius* L. to the threshold of error of 1%). It is clear according to the two equations that more the cellulose and lipid contents, was high more the cycle duration of development was long. It seems that the effect of the lipid content is appreciably the same one for the two species of insects (coefficients are 3.71 and 3.53). It should be announced that if the content cellulose acts in the same direction for the 2 species by increasing their development duration, its action on the viable descent by female was the same one in absolute value (the same coefficient) but with a contrary sign. The two equations, which translate this phenomenon are determined by GenStat Eleventh Edition:

$$Z_1 = 5.30 - 1.30x + 0.42y, \text{ for } R. dominica \text{ F.}$$

$$Z_2 = 7.41 - 1.18x - 0.46y, \text{ for } S. granarius \text{ L.}$$

For which Z_1 and Z_2 represent the development durations of *R. dominica* F. and *S. granarius* L., expressed in day respectively; x and y being lipid content and of cellulose, respectively (coefficient of correlation $r^2_1 = 0.59$ for *R. dominica* F. and $r^2_2 = 0.92$ for *S. granarius* L. to the threshold of error of 1%).

Moreover, the increase in the content cellulose results in an increase in the viable descent of *R. dominica* F. and a reduction in the viable descent of *S. granarius* L. This observation go in the same analysis of Anan and Pant (1980), they attested that the lesser grain borer can profit from the favourable action of symbiontes of the digestive tract which have an action recognized on the assimilation of the cellulose (character of Bostrichidae). At the weevil, whose larvae can be nourished exclusively with gluten and starch complemented in vitamins and rock salt, the digestion of cellulose was not possible. The depressive effect

Table 3: Analysis of the compositions* of different cereal species (content in g/100 g)

Compositions	Soft wheat	Durum wheat	Corn	Barley	Rice
Proteins	12.80	15.53	12.22	12.87	8.97
Cellulose	2.90	2.70	3.00	6.10	1.70
Carbone	43.55	43.22	45.76	43.73	43.61
Lipids	1.70	2.10	4.50	1.90	2.20

Table 4: Dry matter loss (%) induced by the development of the average progeny of *S. granarius* L. and *R. dominica* F.

Cereals	Populations			
	Monospecific		Heterospecific	
	<i>S. granarius</i> (4 couples)	<i>R. dominica</i> (4 couples)	<i>S. granarius + R. dominica</i> (2 couples + 2 couples)	<i>S. granarius + R. dominica</i> (4 couples + 4 couples)
Soft wheat	4.74	6.09	4.45	4.01
Corn	0.96	0.26	0.34	0.40
Barley	2.63	3.97	5.34	2.95
Durum wheat	3.72	1.95	3.27	2.40
Rice	3.76	2.31	2.59	1.98

on the average number of descendants of the grains with strong content cellulose (barley and rice) was thus not due randomly. For the lipids, the depressive effect generally exists for many insects' species of the stored alimentations, products. In this case, the corn which is the seed richest in lipids and also that gives the weakest multiplication. The same result was observed on *Trogoderma granarium* E. on wheat, maize and sorghum (Jood *et al.*, 1996). Several Nawrot *et al.* (1995) researchers explain that lipids in kernels become oxidized over time, thus liberating volatiles that may influence the movement of stored-product insects toward or away from the grain. Other results obtained to evaluate the susceptibility of wheat cultivars to the lesser grain borer; Batta *et al.* (2007) suggested that the resistance of these cultivars may be attributed to the low content of protein and high content of carbohydrate compared to susceptible cultivars; Matthew *et al.* (1990, 2006) showed that is genetic between different variety of wheat.

Dry matter loss: Results analysis shows in Table 4, that the dry matter loss induced by the average descent development of the two insects' species depends on infested cereal. The highest loss was observed for the soft wheat of two insects with 4.74 and 6.09% for *R. dominica* F. and *S. granarius* L., respectively. The corn was the least damaged cereal; the recorded dry matter loss was less than 1% with the two species. These observations are in agreement with the results observed with the average descent on various cereals and confirm the good correlation between the multiplication rate and the recorded loss (Bekon and Fleurat-Lessard, 1990). Also, the results of Barney *et al.* (1991) showed when abiotic conditions were favourable for *S. zeamais* M. oviposition, larval development and progeny emergence; the ash, lipid and protein content of the kernels was increased, as was kernel weight loss.

CONCLUSION

Managing insect population that infested stored commodities is a greater challenge today, than previously because pesticide usage becomes more restricted. For a

better approach of control, this study revealed on the one hand, that all the stored grain exhibit the phenomenon of preference/non-preference for the grains of different cereals. This phenomenon is due in the structure and composition of cereal such as, starch, protein, carbohydrates, enzymes etc. (Evers *et al.*, 1999) and on the other hand, brings new elements for their susceptibility/resistance to the two harmful species to the grains stored in semi-arid zone of Setif, Algeria. In this context, available information on the mechanisms of resistance to pests in cereals is discussed by Chandrashekar and Satyanarayana (2006). The resistance of sorghum to insects is due in the chemical and physical composition of the grain. Thus, phenolic compounds such as ferulic acid and tannins are potent inhibitors of the insects. Moreover, grain hardness is a major deterrent to infection. Prolamins, constitute a physical barrier since they are resistant to digestion by insects. Also, an understanding of the natural mechanisms of resistance in the grain is paramount for the development of durable resistance against pests.

ACKNOWLEDGMENT

The author thanks to D. Khelifi at Constantine University for his kindest assistance.

REFERENCES

- Adams, J.M. and G.G.M. Schulten, 1978. Losses Caused by Insects, Mites and Microorganisms. In: Postharvest Grain Loss Assessment Methods, Harris, K.L. and C.J. Lindblad (Eds.). American Association of Cereal Chemists, St. Paul MN., pp: 83-95.
- Anan, M. and N.C. Pant, 1980. Effect of various antibiotics and sulfa drugs on the symbiotes of *Rhyzopertha dominica* F. Ind. J. Entomol., 42: 98-101.
- Arthur, F.H., 2004. Evaluation of methoprene alone and in combination with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat. J. Stored Prod. Res., 40: 485-498.

- Baker, J.E., 1992. Role of methodology in assessment naturally occurring α amylase inhibitors as resistance factors against insects. *Environ. Entomol.*, 21: 646-650.
- Baker, J.E., S.M. Woo, J.E. Throne and P.L. Finney, 1991. Correlation of α amylase inhibitor content in Eastern Soft. Wheat's with development parameters of the rice weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.*, 20: 53-60.
- Barney, R.J., J.D. Sedlacek, M. Siddiqui and B.D. Price, 1991. Quality of stored corn (maize) as influence by *Sitophilus zeamais* (Motsch) and several management practices. *J. Stored Prod. Res.*, 27: 225-237.
- Batta, Y., A. Saleh and S. Salameh, 2007. Evaluation of the susceptibility of wheat cultivars to lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.), (Coleoptera: Bostrichidae). *Arab. J. Plant Prot.*, 25: 159-162.
- Bekon, K.A. and F. Fleurat-Lessard, 1992. Assessment of dry matter loss and frass production in cereal grain due to successive attack by *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst.). *Insect Sci. Applic.*, 13: 129-136.
- Chandrashekar, A. and K.V. Satyanarayana, 2006. Disease and pest resistance in grains of sorghum and millets. *J. Cereal Sci.*, 44: 287-304.
- Danho, M., E. Haubruge, C. Gaspar and G. Lognay, 2000. Selection of grain-host by *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Curculionidae) previously infested grains. *Belg. J. Zool.*, 130: 3-9.
- Delobel, A. and M. Tran, 1993. Beetels Food Stored in the Hot Regions. *Tropical Fauna, Inst. Res. Develop, Paris*, pp: 424.
- Evers, A.D., A.B. Blakeney and L. O'Brien, 1999. Cereal structure and composition. *Aust. J. Agric. Res.*, 50: 629-650.
- Farjan, M.A., 1983. Population dynamics of two stored durum wheat insects, the rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) and lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) has been studied in the laboratory and at the grain bulk in a simulated climate of North Africa. *Th. Ing. Agr. Inst. Agr. Veter. Hassan II, Rabat*, pp: 99.
- Faroni, L.R.A. and Y.F. Garcia-Maria, 1992. Influence of temperature on biological parameters of *Rhyzopertha dominica* (F.). *Bol. San. Veg. Pest*, 18: 455-467.
- Feng, G.H., M. Richardson, M.S. Chen, K.J. Kramer, T.D. Morgan and G.R. Reeks, 1996. α Amylase inhibitors from wheat: Amino acid sequences and patterns of inhibition of insect and human α amylases. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 26: 419-426.
- Fornal, J., T. Jelinski, J. Sadowska, S. Grunda, J. Nawrot, A. Niewiada, J.R. Warchalenski and W. Blaszczyk, 2007. Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) eggs and internal stage analysis. *J. Stored Prod. Res.*, 43: 142-148.
- Giacinto, S., G.A. Cristofaro and G. Rotundo, 2008. Behavioral responses of adult *Sitophilus granarius* L. to individual cereal volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 34: 523-529.
- Giga, D.P. and S.R.J. Canhao, 1993. Competition between *Prostephanus truncatus* H. and *Sitophilus zeamais* M. in maize at two temperatures. *J. Stored Prod. Res.*, 29: 63-70.
- Godon, B. and W. Loisel, 1984. Practical Guide Analysis in the Industry of Cereals. *Technol. Document Lavoisier, Paris*.
- Golebiowska, Z., 1969. Feeding and fecundity of *Sitophilus granarius* L., *Sitophilus oryzae* L. and *Rhyzopertha dominica* F. in wheat grain. *J. Stor. Prod. Res.*, 5: 143-155.
- Irshad, M., W.A. Gillani and F. Gul, 1991. Relative resistance in some wheat varieties/genetic lines to red flour beetle and lesser grain borer. *Pak. J. Agric. Res.*, 12: 51-54.
- Jood, S., A.C. Kapoor and R. Singh, 1996. Effect of insect infestation and storage on lipids of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 1502-1506.
- Lee, S., C.J. Peterson and J.R. Coats, 2003. Post-harvest insect pests cause serious losses during product storage, reduction the quantity and/or quality of the stored products. *J. Stored Prod. Res.*, 39: 77-85.
- Madrid, F.J., N.D.G. White and S.R. Loschiavo, 1990. Insects in stored cereals and their association with farming practices in Southern Manitoba. *Can. Entomol.*, 122: 515-523.
- Matthew, J., N. Broughton and F.V. Dunkel, 1990. Interactions of Genetic Traits, Agronomic conditions, and Prior Insect Damage on Post-Harvest Insect Resistance in Montana Hard Wheat Varieties. *Dept. Entomol. Montana University, Bozeman*.
- Matthew, J., N. Broughton and F.V. Dunkel, 2006. Interactions of wheat variety, production environments and prior insects damage on post-harvest resistance to the lesser grain borer. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1826-1834.
- Menon, A., P.W. Flinn and A.D. Dover, 2002. Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Stored Prod. Res.*, 38: 463-469.

- Nawrot, J., Z. Winiecki, J. Szafraner, E. Malinski and J. Harmatha, 1995. Search of natural antifeedant and attractants for stored product pest. Proceedings of the International Forum. Stored Prod. Strasbourg, 1995, French, pp: 149-164.
- Niewiada, A., J. Nawrot, J. Szafrank, B. Szafrank, E. Synak, H. Jelen and E. Wasowicz, 2005. Some factors affecting egg laying of the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.). *J. Stored Prod. Res.*, 41: 544-555.
- Padin, S., G.D. Bello and M. Fabrizio, 2002. Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. *J. Stored Prod. Res.*, 38: 69-74.
- Rees, D.P., 1996. Coleoptera. In: Integrated Management of Insects in Stored Products, Subramanyam, B. and D.W. Hagstrum (Eds.). Marcel Dekker Inc., New York.
- Shewry, P.R., 2007. Improving the protein content and composition of cereal grain. *J. Cereal Sci.*, 46: 239-250.
- Silhacek, D. and C. Murphy, 2006. A simple wheat germ diet for studying the nutrient requirements of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hubner.). *J. Stored Prod. Res.*, 42: 427-437.
- Thoumy, V., 1995. Functional Properties of Protein Extracted From Wheat Flour After Chemical or Enzymatic Modification. Th. Doct. University, Bordeaux.
- Trematerra, P., F. Fontana, M. Mancini and A. Sciarretta, 1999. Influence of intact and damaged cereal kernels on the behaviour of rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.*, 35: 265-276.
- Weston, P.A. and P.L. Rattigourd, 2000. Progeny production by *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) on maize previously infested by *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 533-536.
- White, N.D.G., 1995. Insects, Mites and Insecticides in Stored Grain Ecosystems. In: Stored Grain Ecosystem, Jayas, D.S., N.D. White and W.E. Muir (Eds.). Marcel Dekker, New York, USA., pp: 123-168.

Susceptibility of twelve soft wheat varieties (*Triticum aestivum*) to *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)

Mebarkia A¹., Rahbé Y²., Guechi A³., Bouras A⁴. and Makhlouf M⁵.

¹Department of Agronomy, Faculty of Sciences, University of Setif, Algeria.

²UMR, INRA/INSA, Functional Biology, Insects and Interactions, INSA, B¹ Louis Pasteur, 69621 Villeurbanne, France.

³Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Setif, Algeria.

⁴Laboratory of Quality, Agro-Alimentary Industry of Setif, Algeria.

⁵Agricultural Experimental Station of the Field Crop Institute of Setif- Algeria.

*Corresponding author: A. Mebarkia, Department of Agronomy, Faculty of Sciences, Ferhat Abbas University, Setif – Algeria Tel: +213 06 63 27 59 49

E-mail: mebarkiabba@yahoo.fr

ABSTRACT

The aim of study is the effect of trophic medium of twelve soft wheat varieties on the biotic potential of *S. granarius* L. After 3 months of storage under laboratory conditions at 27 ± 2 ° C and $70 \pm 5\%$ rh, have reveals that the preferred varieties for development of this species are Hidhab, Mahon Demias, Arfort and Siete Ceros. This latest was found to be the most susceptible. Growth index and loss were highest with 2.08 and 3.27% respectively. Laboratory analysis of the main grain components of the different varieties suggested that the susceptibility of these varieties to *S. granarius* infestation may be attributed to the high content of protein and low content of carbohydrate compared to resistance varieties.

Keywords: Soft wheat, Varietals susceptibility, *Sitophilus granarius* L., Storage losses.

INTRODUCTION

Cereals are a major source of dietary protein for humans. The mean annual production in the world (2001-2005) of all cereals exceeded 2100 million tones (Shewry, 2007). Cereal grains, wheat in particular, are among the most important crops globally. Cereal grain losses during storage can reach 50% of total harvest in some countries, a worldwide loss quality of grain is caused by insects (Fomal et al., 2007), because they have become cosmopolitan since humans began harvesting and storing (Padin et al., 2002). Many variables affect grain storability (Maier et al., 1997), noted that, the primary post-harvest pests of concern are insects and fungi, both of which develop as a function of temperature, moisture content and time Stored grains are an ideal food source for stored product insect pests, providing the essential elements required for continued growth and development. The levels of, carbohydrates, proteins, lipids and vitamins required varies with the species concerned (Mason et al., 1997). *Sitophilus granarius* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.) are well known pests of stored grains in Algeria along with some other pests

(Anonymous, 1993). Managing insect populations that infest stored commodities is a greater challenge today than previously because pesticide usage becomes more restricted. The search for environmentally safe alternatives is the focus of research in many laboratories around the world (Silhacek and Murphy, 2006). In our laboratory, we are seeking new approaches based upon the insect's behaviour. We looking at the growth of grain weevil on different processed soft wheat varieties products the insect's growth rate largely depend upon the variety providing the nutriment. Studies have shown that these methods play important role in the reduction of pest populations. Investigations by Baloch and Irshad (1986); Sarin and Sharma (1983), have revealed that all the stored grain pests exhibit the phenomenon of preference / non-preference for the grains of different varieties. Khattak et al. (1988), have conducted studies on progeny production and loss by *Sitophilus granarius* (L.) in different local maize varieties flour. Also, several authors Khattak and Shafique (1986), Rodrigues et al (1990), have tested different wheat varieties to *Sitophilus granarius* (L.). Weight loss in stored wheat due to *Rhyzopertha dominica* (F.) has been evaluated by Malagon and

Trochaz (1985), to *Sitophilus granarius* (L.) by Bekon and Fleurat-Lessard (1992). Susceptibility of wheat cultivars to *Rhizopertha dominica* (F.), has been investigated by Batta *et al.* (2007).

Keeping in view the importance of the problem, various varieties of soft wheat were tested for their susceptibility to *Sitophilus granarius* L. The objective of this research was to evaluate susceptibility of soft wheat grain to weevil in the storage laboratory condition.

MATERIALS AND METHODS

The present study was conducted on the following wheat varieties; Aïn Abid, Arz, Siete Ceros, Arfort, Anza, Orion, Mahon Demias, Marchouche, Sleab, Hidhab, Porengo and Binova. These were obtained from the wheat program between Agricultural Experimental Station of the Field Crop Institute (ITGC) of Sétif (Algeria) and International Center for Agriculture Research in the Dry Areas (ICARDA) of Aleppo (Syria).

Adults of *Sitophilus granarius* L., were collected from a mass rearing under experimental conditions of temperature 27 ± 2 ° C and $70 \pm 5\%$ relative humidity. In each box, 5 couple of *Sitophilus granarius* L were placed in 100 grams of wheat grains of each variety to study on the one hand, the biological fertility and growth index of the insect and on the other hand, the physical parameter of thousand grain weight and moisture content of grain, chemical parameters of protein and carbohydrate content of grain. These boxes are covered with nets to aerate the insects under the same culture conditions. The number of repetitions is three.

To better assess fertility, we counted the number of eggs laid after 15 days. To reveal the presence of egg plugs, the method was adapted from that of Holloway (1985) in Danho *et al.*, (2000). This method involves soaking grains in warm water (25-30°C), followed by their immersion in an acid fuchsine solution at 0,5 g/l during 1-2 minutes. The grains are finally rinsed with water. The egg plugs are observed through a binocular microscope and they appear cherry red.

The observation period of larval development / total and adult emergence are followed regularly. The growth index was calculated to assess the level of sensitivity of these varieties by studying the method of antibiosis wheat varieties (Sarin and Sharma, 1983):

Where

N: Larvae that become adult (%). D: The total development time.

Weight loss (%) was determined since the introduction of insects with the grain of wheat for each variety until adult emergence of the F1 generation. It is calculated by the method of Pointel (1980):

$$WL (\%) = Wh - Wd$$

Where

Wh = Weight healthy grains before infestation.

Wd = Weight damaged grains after infestation.

Data processing statistics are made by the software XLSTAT V7 for the analysis of the correlation matrix, the principal component analysis and the dendrogram.

RESULTS AND DISCUSSION

Results showed significant differences between the various of growth index of *Sitophilus granarius* L. the twelve varieties of wheat. It was comparatively higher in the variety Siete Ceros, followed by Mahon Demi, Hidhab, Arfor, Marchouch, Anza, Orion, Sleab, Aïn Abid Porengo, Binova and Arz (Table 1). According Silhacek and Murphy (2006), the growth rate of *Plodia interpunctella* on different cereal products varies due to differences in availability of nutrients for insects.

An almost similar behavior was exhibited by these varieties on the basis of the number of eggs laid. These results correlate with the work of Faroni and Maria Garcia (1992), who noted that the duration of embryogenesis, larval, pupal and number of eggs laid varies according to temperature conditions, the relative humidity and the nature of the grain.

Thus, we can conclude that the varieties with the period of larval development are shorter, were more sensitive. According Trematerra *et al.*, (1999), cereal grains affects the behavior of *Sitophilus oryzae* L. and explained that they are attractive in different ways by releasing volatile substances naturally once shelled or broken.

Recently, Giacinto *et al.* (2008) showed that the antennae of adults of *Sitophilus granarius* L., detecting a wide variety of compounds such as aliphatic alcohols, aldehydes, ketones and aromas mixed with the smell of various cereal grains.

Table 1. The biological parameters of *S. granarius* L and technology varieties of soft wheat.

Parameters	Fertility	Growth index	Weight loss (%)	Weight 1000 grains	Components of grain (%)		
					Grain moisture	Protein	Carbohydrate
Varieties							
Ain Abid	66.82	1.14	2.1	38.32	12.33	10.15	70.98
Arz	23.35	0.69	1.39	41.50	12.35	9.27	73.70
Siete Ceros	196.12	2.08	3.27	43.43	12.02	16.63	68.06
Arfort	135.77	1.71	2.67	46.21	12.13	15.65	68.12
Anza	89.37	1.51	2.43	43.04	12.05	11.60	71.60
Orion	63.37	1.06	1.67	45.99	11.88	10.35	72.25
M.Demias	166.80	2.04	2.97	42.92	12.06	15.83	68.17
Marchouche	102.60	1.70	2.50	44.80	12.05	10.12	73.46
Sleab	77.27	1.44	2.27	45.15	12.13	11.53	70.75
Hidhab	141.0	1.94	2.67	34.97	11.89	15.62	68.25
Porengo	45.50	0.73	1.40	35.76	11.81	10.30	73.25
Binova	40.97	0.70	1.42	35.42	11.80	9.82	73.53

Other outcomes to assess the sensitivity of wheat varieties to *Rhyzopertha dominica* F. Batta *et al.* (2007), suggests that resistance of these varieties can be attributed to the low protein and high in carbohydrates compared to susceptible varieties; Also, Matthew *et al.* (2006) showed that it is genetic between different varieties of wheat.

These tests showed that the variety Siete Ceros was most sensitive to *Sitophilus granarius* L. based on the weight loss of about 3, 27%. These observations are consistent with results observed with the progeny average on different cereals and confirm the good correlation between the multiplication rate and the loss recorded (Bekon and Fleurat-Lessard, 1992).

Also, the results of Barney *et al.* (1991) showed that when abiotic conditions are favorable for oviposition, larval development and emergence of the progeny of *Sitophilus zeamais* M. Therefore, ash, fat and protein

content of grain will increase relative to the weight loss of grain.

Therefore, these results are consistent with previous studies. We can conclude that each variety behaves differently to pests of stored grain. However, this aspect should be taken into account in program improvement. Thus, Khattak and Shafique (1986) evaluated wheat varieties, respectively, against *Tribolium castaneum* H. and *Sitophilus granarius* L. Sharma (2000), Saljoqi *et al.* (2002), Laskar and Ghost (2004) and Sharma *et al.* (2005) against *Sitophilus oryzae* L. But the varieties used were different from those tested in the context of the present study.

To better assess the results obtained, an analysis of the correlation matrix between the physical and technological parameters of wheat varieties and biological parameters of *Sitophilus granarius* L was performed (Table 2).

Table 2. The correlation matrix

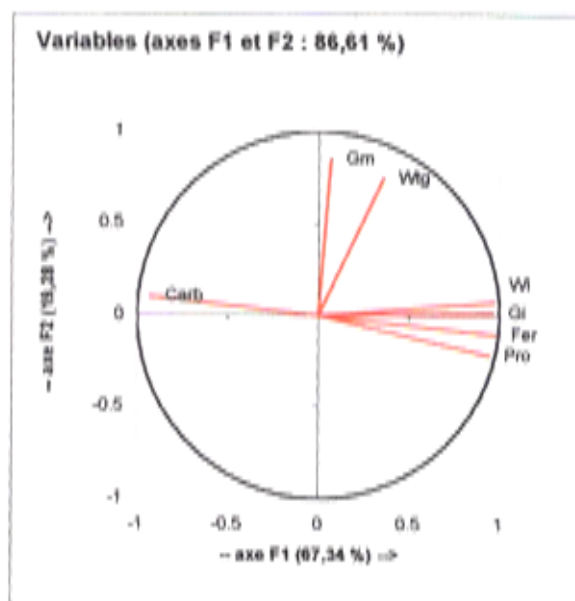
Variables	Fer	Gi	WI	Wtg	Gm	Pro	Carb
Fer	1						
Gi	0,949	1					
WI	0,957	0,981	1				
Wtg	0,282	0,364	0,374	1			
Gm	-0,038	0,042	0,127	0,367	1		
Pro	0,935	0,851	0,852	0,158	-0,081	1	
Carb	-0,877	-0,827	-0,840	-0,180	-0,073	-0,953	1

Fer: Fertility; Gi: Growth index; WI: Weight loss; Wtg: Weight thousand grain; Gm: Grain moisture; Pro: Protein; Carb: Carbohydrate.

According to the correlation matrix, we retain the most significant variables in the error threshold of 5%. The correlation matrix has shown a strong correlation between different parameters. Fertility, growth index, weight loss and protein are strongly correlated, and negatively with starch content. But

the weight of thousand grains and grain moisture are independent of changes in other parameters.

The principal component analysis of the distribution of variable data on the biology of the insect and the quality of the twelve varieties of soft wheat has identified two main factors explaining 86.61% of the Total variability (figure 1).



Fer: Fertility; Gi: Growth index; WI: Weight loss; Wtg: Weight thousand grain; Gm: Grain moisture; Pro: Protein; Carb: Carbohydrate.

Fig 1. Principal component analysis of the distribution of parameters on the main factor

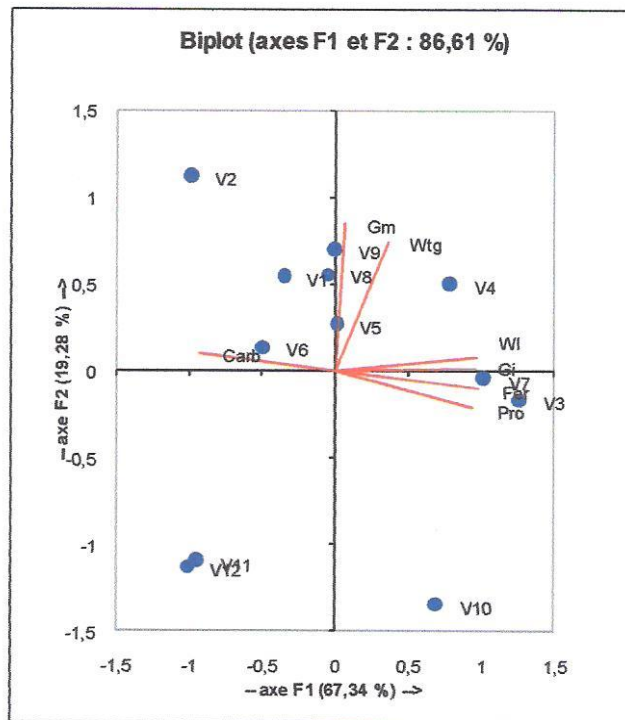
Axis 1: It represents the axis of fertility, loss of weight, growth index content of protein and carbohydrate alone explains 69.34% of the total variability.

Axis 2: It represents the axis of the grain moisture and weight of thousand grains and alone explains 19.28% of the total variability.

Moreover, the figure 2, shows clearly that the axis of fertility is positively related to weight loss, the growth

index, protein and varieties Siete Cerros and Mahon Demias and negatively with the content carbohydrate and Orion. But the axis of the grain moisture is positively related to the weight of thousand grains and varieties Sleab, Anza and Marchouche.

In addition, the hierarchical clustering of the description of the dendrogram (Figure 3) has identified 03 groups of varieties.



Fer: Fertility; Gi: Growth index; WI: Weight loss; Wtg: Weight thousand grain; Gm: Grain moisture; Pro: Protein; Carb: Carbohydrate.

Fig 2. Principal component analysis of the distribution of parameters and varieties on the main factors.

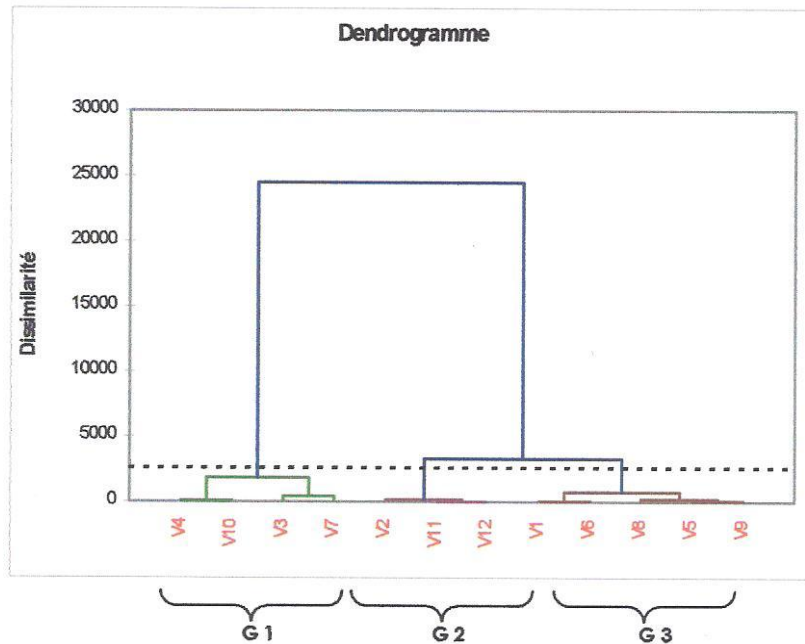
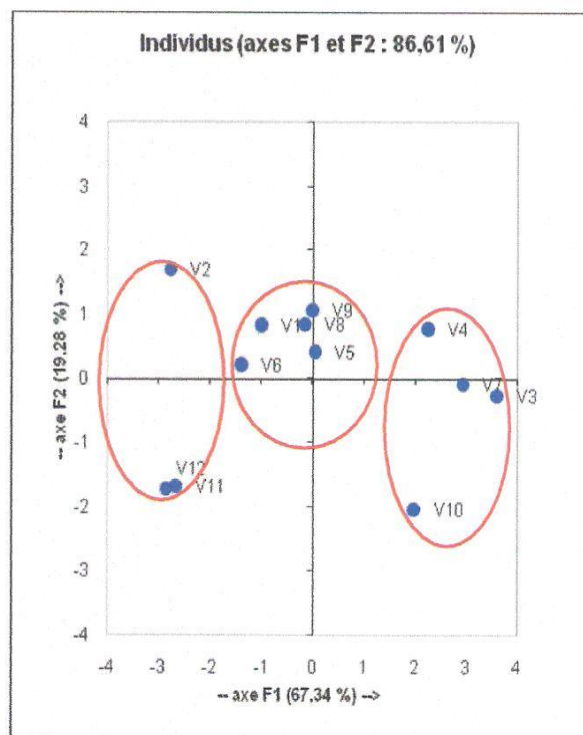


Fig 3. Ascending hierarchical classification of the description of dendrogram.



V1: Aïn Abid; V2: Arz; V3: Siete Ceros; V4: Arfort; V5: Anza; V6: Orion; V7: Mahon Demias; V8: Marchouche; V9: Sleab ; V10 : Hidhab ; V11 :Porengo ; V12 : Binova.

Fig 4. Principal component analysis of the distribution varieties on the factors

Table 3. Description of groups of soft wheat varieties.

Parameters	Fertility (Nbres)	Growth index	Weight loss (%)	Weight of 1000 grains (g)	Grain moisture (%)	Protein (%)	Carbohydrate (%)
G1	159.92±27.68	1.94±0.16	2.89±0.29	41.85±4.80	12.02±0.1	15.93±0.47	68.15±0.08
G2	38.27±8.89	0.71±0.02	1.40±0.01	37.56±3.42	11.99±0.31	9.80±0.51	73.49±0.23
G3	79.89±16.25	1.37±0.26	2.19±0.33	43.46±3.07	12.08±0.15	10.75±0.75	71.81±1.09

Thus, three groups of varieties are distributed on the two axes F1 and F2 (Figure 4)

We notice that Group 1 is composed of varieties (Arfort, Hidhab, Siete Ceros and Mahon Demias),

group 2 varieties (Arz, Porengo and Binova) and group 3 varieties (Aïn Abid, Orion, Marchouche, Sleab and Anza). The characteristics of these groups are listed in Table 3.

Group 1 is characterized by a high fertility (159.92 ± 27.68) eggs, growth index (1.94 ± 0.16), weight loss ($2.89 \% \pm 0.29$) and protein content ($15.93 \% \pm 0.47$). But a low carbohydrate content ($68.15 \% \pm 0.23$). We can say that this group contains varieties that are considered sensitive.

Group 2 is characterized by a low fertility (38.27 ± 8.89) eggs, growth index (0.71 ± 0.02), weight loss ($1.40 \% \pm 0.01$) and protein content ($9.80 \% \pm 0.51$). But a high carbohydrate content ($73.49 \% \pm 0.23$). This allows us to say that this group contains varieties that are considered resistant.

Group 3 is characterized by a high thousand grain weight (43.46 ± 3.07), grain moisture ($12.08 \% \pm 0.15$) and slightly carbohydrate content ($71.81 \% \pm 1.09$). But the other parameters are low. Then, we can say that this group contains varieties that are considered moderately sensitive.

From this, we deduced that the presence of biochemical constituents within twelve varieties of wheat that will allow or prevent the development of this pest and, in the presence or not of substance acting at the both factors as repellents and biochemical inhibitors.

These results imply that stored grain managers should be aware of potential differences in susceptibility, attributable to wheat varieties, to *Sitophilus granarius* L infestation.

CONCLUSION

For a better approach of control of this pest, this study revealed on the one hand, that all the stored grain exhibit the phenomenon of preference / non-preference for the grains of different varieties. This phenomenon is due in the structure and composition of soft wheat such as, starches, carbohydrates, enzymes (Evers *et al.*, 1999); proteins (Gupta *et al.*, 2000); on the other hand, brings new elements for their susceptibility/resistance to the harmful specie to the grains stored in semi-arid zone of Setif, Algeria. It seems that susceptibility to the attacks of *Sitophilus granarius* L., is reached at the Siete Ceros, Arfort, Mahon demias and Hidhab varieties; whereas the resistant varieties are respectively Arz, Porengo and Binova. However, in addition to food proteins, there exists naturally in corn, the substance of proteinic nature inhibiting the action of the proteases of the insects (Piasecka *et al.*, 2005). It would be desirable to carry out technological analysis by studying food modulation of the activity of enzymes purified from the insect by natural inhibitors in cereals to find

favorite foods and responsible development of these granivorous, and aimed to identify and create new varieties of soft wheat resistant. Such resistant varieties could be therefore selected for using in breeding programs for developing varieties resistant to *Sitophilus granarius*.

REFERENCES

- Anonymous, (1993). Investigation on insects stored food of cereals and dry vegetables in Algeria. Nat. Inst. Plant. Prot, Algiers, 7p.
- Baloch, U.K. and Irshad, M (1986). Post-harvest Research on Food Grains. Rev Crop Sci, Division, Pakistan Agric. Res. Coun., Islamabad, 45 p.
- Batta, Y., Saleh, A. and Salameh, S (2007). Evaluation of the susceptibility of wheat cultivars to lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* F.), (Coleoptera: Bostrichidae). Arab. J. Pl. Prot. 25: 159-162.
- Barney, R.J., Sedlacek, J.D., Siddiqui, M. and Price, B.D (1991). Quality of stored corn (maize) as influence by *Sitophilus zeamais* (Motch.) and several management practices. J. Stor. Prod. Res. 27: 225-237.
- Bekon, K.A. and Fleurat-Lessard, F (1992). Assessment of dry matter loss and frass production in cereal grain due to successive attack by *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst.). Insect. Sci. Applic. 13: 129-136.
- Danho, M., Haubruge, E., Gaspar, C. and Lognay, G (2000). Selection of grain-host by *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) in the presence of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) previously infested grains. Belg. J. Zool. 130: 1-9.
- Evers, A.D., Blakeney, A.B. and O'brien, L (1999). Cereal structure and composition. Aust. J. Agri. Res. 50: 629-650.
- Faroni, L.R.A. and Garcia-Maria, Y.F (1992). Influence of temperature on biological parameters of *Rhyzopertha dominica* (F.). Bol. San. Veg. Pest. Spanish. 18: 455-467.
- Fomal, J., Jelinski, T., Sadowska, J., Grunda, S., Nawrot, J., Niewiada, A., Waechalenski, J.R. and Blaszczyk, W (2007). Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* L., eggs and internal stage analysis. J. Stor. Prod. Res. 43: 142-148.
- Giacinto, S., Cristofaro, G.A. and Rotundo, G (2008). Behavioral responses of adult *Sitophilus granarius* L. to individual cereal volatiles. J. Chem. Ecol. 34: 523-529.
- Gupta, A.K., Bahal, S.R., Awasthi, B.K and Verma, R.A (2000). Reaction of protein, starch and ash constituent of different varieties of maize on growth and development of *Sitophilus oryzae* L. Indian. J. Entomol. 62: 375-381.

- Kattak, S.U., Zeb, A., Khatoon, R. and Khan, A (1988). Studies on the progeny production and losses by *Tribolium castaneum* (Herbst.) in different local maize varieties flour. *Sarhad J. Agric.* 4: 313-316.
- Kattak, S.U. and Shafique, M (1986). Varietal susceptibility studies of ten wheat cultivars flour to *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pakistan J. Zool.* 18: 257-261.
- Laskar, N. and Ghosh, S.K (2004). Relative susceptibility of some wheat *Triticum aestivum* L. against *Sitophilus oryzae* L. *Environ. Ecol.* 22: 411-413.
- Maier, D.E., Rulon, R.A. and Mason, L.J (1997). Chilled versus ambient aeration and fumigation of stored popcorn; Part 1: Temperature management. *J. Stor. Prod. Res.* 33: 39-49.
- Malagon, M.E. and Trochaz, P.A (1985). Evaluation of weight loss in stored wheat caused by lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) and observations on its life cycle under laboratory conditions. *Acta Agron.* 35: 78-90.
- Masson, L.J., Rulon, R.A. and Maier, D.E (1997). Chilled versus ambient aeration and fumigation of stored popcorn. Part 2: Pest management. *J. Stor. Prod. Res.* 33: 51-58.
- Matthew, J., Broughton, N. and Dunkel, F.V (1990). Interactions of genetic traits, agronomic conditions and prior insect damage on post-harvest insect resistance in Montana hard wheat varieties. *Depart. Entomol. Montan. Univ. Bozeman.* 49 p.
- Rodrigues-Cobos, C., Haubruge, E. and Gaspar, C (1990). Susceptibility of grains to several varieties of wheat, *Triticum aestivum* (L.) to *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Med. Fac. Landbouw. Rijkuniv.Gent.* 55: 395-404.
- Padin, S., Bello, G.D. and Fabrizio, M (2002). Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and bean treated with *Beauveria bassiana*. *J. Stor. Prod. Res.* 38: 69-74.
- Piasecka, K.D., Gawlak, M., Niewiada, A., Nawrot, J., Warshalewski, J.R., Fornal, J. and Grundas, S (2005). An effect of chemical properties of three wheat grain varieties on feeding intensity and developmental parameters of the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.). *Progr. Plant. Prot.* 45: 982-985.
- Saljoqi, A.U.R., Afridi, M.K., Sajjad, A. and Abdur, R (2002). Relative resistance of some wheat cultivars to *Sitophilus oryzae* L. in stored wheat grains. *Sarhad. J. Agr.* 18: 237-240.
- Sarin, K. and Sharma, K (1983). Study of antibiosis in wheat varieties. Part I. Correlation of diapause and growth index. *Bull. Grain Tech.* 21: 24-30.
- Sharma, R.K (2000). Studies on relative resistance of some maize varieties to *Sitophilus oryzae* L. *Ann. Agr. Res.* 21: 145-147.
- Sharma, R.P., Mohamad, M., Paul, S.K., Amitava, B. and Maity, S (2005). Susceptibility of different varieties of wheat against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Envir. Ecol.* 23: 90-91.
- Shewry, P.R (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. *J. Cereal. Sci.* 46: 239-250.
- Silhacek, D. and Murphy, C (2006). A simple wheat germ diet for studying the nutrient requirements of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (H.). *J. Stor. Prod. Res.* 42: 427-437.
- Trematerra, P., Fontana, F., Mancini, M. and Sciarretta, A (1999). Influence of intact and damaged cereal kernels on the behaviour of rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stor. Prod. Res.* 35: 265-276.