

EFFET BIOCIDÉ DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUE ET AQUEUX DU BIGARADIER *CITRUS AURANTIUM* L. (1753) SUR LE CHARANÇON DU BLÉ *SITOPHILUS GRANARIUS* (LINNAEUS, 1758)

TCHAKER Fatma zohra^{1*} et DJAZOULI Zahr-Eddine²

1. Université Yahia Farès Médéa, Faculté des Sciences, département des Sciences la Nature et de la Vie, Pôle urbain 26000 Médéa (Algérie), Tel. 025.78.51.33/ Fax : 025.78.56.28.
2. Université de Blida 1- Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie - Département des Biotechnologies - Laboratoire de Biotechnologie des Productions Végétales- P.B. 270, route de Soumâa. Blida, Algérie. Tel/Fax: +213 25 43 48 03.

Reçu le 12/05/2020, Révisé le 15/12/2020, Accepté le 31/12/2020

Résumé

Description du sujet: La perte post récolte des céréales demeure un problème majeur en Algérie. Les méthodes apportées pour lutter contre les insectes, principaux prédateurs des stocks, ont été essentiellement chimiques. Compte tenu des nuisances associées à l'utilisation des pesticides, une recherche d'alternatives s'impose, particulièrement par l'utilisation des extraits de plantes dotées d'activités insecticides.

Objectif: L'étude a pour objet d'évaluer le pouvoir insecticide des phyto-pesticides à base des extraits méthanoliques et aqueux de Bigaradier *Citrus aurantium* L., sur le taux de mortalité de *Sitophilus granarius*.

Méthodes: Deux extraits sont préparés à partir de feuilles et de fruits de Bigaradier à savoir: les extraits méthanoliques et aqueux. Les spécimens sont collectés au niveau deux régions distinctes une montagneuse et une deuxième sub-littorale. Après extraction, quatre doses sont recommandées et deux modes d'action sont utilisés (contact et ingestion) contre *S. granarius* afin de mettre en évidence la capacité insecticide du Bigaradier.

Résultats: les extraits ont montré un effet toxique marqué sur *S. granarius* dont les potentialités biocide s'accroissent avec l'augmentation des doses. Les extraits méthanoliques ont fournis un meilleur potentiel biocide comparé aux extraits aqueux. Le traitement par contact provoque un effet toxique important sur la mortalité par rapport au traitement par ingestion. Les extraits à base de fruits ont montré une efficacité par rapport aux extraits à base de feuilles. L'évaluation des doses et des temps létaux 50 (DL50; TL 50) montre que les extraits agissent par contact en provoquant un effet toxique rapide à l'égard de la cible étudiée.

Conclusion: Les extraits de bigaradier peuvent avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules bioactives contre les insectes.

Mots clés: *Citrus aurantium* L.; Extrait méthanolique; Extrait aqueux ; *Sitophilus granarius*; Toxicité.

BIOCIDAL EFFECT OF METHANOLIC AND AQUEOUS EXTRACTS OF BITTER ORANGE *CITRUS AURANTIUM* L. (1753) ON THE GRANARY WEEVIL *SITOPHILUS GRANARIUS* (LINNAEUS, 1758)

Abstract

Description of the subject: Post-harvest losses of cereals remain a major problem in Algeria. The methods brought to eliminate insects, major pests of stored products were mainly chemical. Given the nuisance associated with the use of pesticides, a search for alternatives is needed, especially through the use of plants extracts with insecticidal activities is essential.

Objective: The aim of this work was to evaluate the insecticidal power of phyto-pesticides based on methanolic and aqueous extracts of Bitter Orange *Citrus aurantium* L., on the mortality rate of *Sitophilus granarius*.

Methods: Two extracts were prepared from fruit's leaves of bitter orange harvested in mountainous and sub-littoral region, namely methanolic and aqueous extracts. After extraction, four doses were recommended, and two methods were used (contact and ingestion) against individuals of *S. granarius* in order to prove the insecticidal capacity of different extracts of Bitter Orange.

Results: The extracts showed a very marked toxic effect on *S. granarius* whose biocidal potential is accentuated with raising doses. Methanolic extracts provided the best biocidal potential compared to aqueous extract. The treatment by contact has a greater effect on mortality than the treatment by ingestion. Fruit-based extracts have shown notable effectiveness compared to leaf-based extracts. The evaluation of the doses and the lethal's times 50, shows that the extracts act on contact by causing an early toxic effect on the target studied.

Conclusion: Extracts of bitter orange can offer a promising source of bioactive molecules against insects.

Keywords: Aqueous extract, *Citrus aurantium* L; Methanolic extract; *Sitophilus granarius*; Toxicity.

* Auteur correspondant: TCHAKER Fatma Zohra, E-mail: zola.tchaker@hotmail.fr

INTRODUCTION

Le monde est confronté aux défis d'accroître la production agricole pour répondre aux besoins d'une population en croissance continue, en limitant les pertes avant et après récolte tout en préservant l'environnement [1]. Malgré les différentes initiatives dans ce contexte, l'insécurité alimentaire est toujours marquée par des pertes post-récolte non négligeables. Une perte de 35% de la production mondiale est due aux insectes, la FAO estime que la quantité de grains détruite chaque année par les insectes pourrait nourrir 100 millions d'Hommes [2; 3]. D'après l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (O.A.I.C.), les pertes post-récoltent de céréales dues aux insectes nuisibles, sont estimées à 35% de la production céréalière de pays [4]. Les méthodes de lutte classiquement préconisées contre les organismes nuisibles des stocks, repose essentiellement sur des traitements chimiques dont les effets indirects sont souvent nocifs pour l'homme et la biosphère [5]. L'importance des désordres écologiques observés suite à l'utilisation abusive des produits de synthèse, incite une réflexion approfondie sur des approches alternatives ou complémentaires pour un développement durable de l'agriculture [6]. La lutte contre les ravageurs des cultures et des denrées stockées par le biais des biopesticides botanique est observée depuis bien longtemps. Les récents progrès relatifs aux techniques de chimie analytique et biologie moléculaire ont permis une meilleure compréhension des interactions plantes et phyto-ravageurs [6]. D'après Ngamo et Hance [7], les plantes sont naturellement dotées de médiateurs chimiques permettant la communication entre les espèces et interviennent dans la défense du végétal contre les ravageurs. Les phyto-pesticides valorisables sous forme d'huiles essentielles ou extraits, présentent un réel intérêt suite à leur faible rémanence et leur faible toxicité pour la biodiversité. Dans ce contexte, le recours à la lutte biologique particulièrement par l'utilisation des extraits de plantes dotés d'activités insecticides offre une certaine potentialité [8]. Cette nouvelle approche prend de l'ampleur au niveau des programmes de recherches scientifiques. Nous nous proposons, dans ce travail d'estimer la potentialité insecticide des phyto-pesticides à base des extraits aqueux et méthanoliques des feuilles et fruits du Bigaradier, *Citrus aurantium* L. (1753)

(Rutacées) à l'égard du charançon du blé *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) et pour cela nous avons cherché à répondre aux questions hypothèses suivantes: Quel serait l'impact des molécules bioactives sur le taux de mortalité de *Sitophilus granarius*?, (ii) La toxicité est-elle en relation avec l'origine géographique de la plante productrice de l'extrait?, (iii) L'effet bioactives est-il en rapport avec le compartiment de la plante utilisé?, (iv) Est-ce que le mode d'action contacte et ingestion ont une incidence sur l'activité insecticides du bioproduit?

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel biologique

1.1. Modèle biologique végétal

Les feuilles et les fruits du bigaradier *Citrus aurantium* (Rutacées) sont utilisés comme principe actif, ces derniers sont collectés au stade de floraison durant la période printanière au niveau de deux régions distinctes soumises à des conditions géo-stationnelles différentes à savoir: La région Montagneuse (Médéa), située à une altitude de 1030 m, une longitude 2°44' E et une latitude 36°17' N (Office National de Météorologie «ONM», Alger). Les précipitations sont caractérisées par une grande variabilité entre 617,5 et 1084mm. Les mois les plus froids sont janvier et février avec des températures moyennes minimales respectives de 4,1°C et 3,3°C, tandis que les mois les plus chauds sont juillet et août avec des températures moyennes maximales respectives de 32,3°C et 32,3°C. Le quotient pluviothermique d'Emberger Q_2 , classe la zone de Médéa dans l'étage bioclimatique sub-humide à hivers tempéré (O.N.M). La région sub-littorale (Blida), située à une altitude de 80 à 100 m, une longitude de 2°45'E et une latitude de 36° 35'N [9]. Sur le plan thermique, le mois le plus froid est janvier avec des températures moyennes de 5,03°C et 6,04°C, et une température moyenne maximale de 13,74°C, tandis que les mois les plus chauds sont juillet et août avec des températures maximales respectives de 32,95°C et 33,88°C et de 20,85°C suivie de 21,59°C comme température moyenne minimales. Les précipitations sont caractérisées par une grande fluctuation variant entre 380 mm et 787,88 mm et ont lieu durant l'hiver et le printemps. Le quotient pluviothermique d'Emberger Q_2 , classe cette dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver doux (Agence National des Ressources Hydrauliques (ANRH), Blida). Les

spécimens échantillonnés sont identifiés au préalable par rapport à l'Herbier du Département de Botanique, de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (E.N.S.A.) El Harrach, Alger.

Le matériel végétal obtenu est séché séparément à l'abri de la lumière et l'humidité, à température ambiante ($24 \pm 1^\circ\text{C}$). Après séchage, à l'aide d'un broyeur à hélice (MOLINEX), les feuilles et les fruits sont broyés en poudres fines et stockées soigneusement dans un endroit sec.

1.2. Modèle biologique animal

Le matériel biologique destiné à l'évaluation de l'efficacité des phytopréparations appliqués est limité aux individus de *Sitophilus granarius* (Coléoptère: Curculionidae) issus des stocks de l'I.T.G.C. (Institut Technique des Grandes Cultures) d'El Harrach (Alger). L'élevage des insectes est réalisé au laboratoire du département des sciences de la vie et de la nature de l'Université Dr. Yahia Farès de MÉDÉA. L'élevage est réalisé dans une étuve ventilée à une température de 25°C et une Humidité relative de 65%. Les individus de *Sitophilus granarius* sont placés dans un bocal en verre, contenant du blé recouvert d'un filet à fines mailles maintenu par un ruban permettant la respiration des insectes tout en empêchant la fuite des individus.

2. Méthodes d'étude

2.1. Procédure d'extraction des extraits méthanolique et aqueux de *Citrus aurantium*

La partie aérienne (feuilles, fruits) de *Citrus aurantium* réduite en poudre fine sera destinée à préparer respectivement de l'extrait aqueux et méthanolique. 50 g de poudre végétale sont macérés avec 500 ml d'eau distillée, puis mis pour agitation pendant 24 heures à température ambiante. Après filtration, l'extrait est concentré au Rotavapor [10]. 10 g de la poudre végétale sont ajoutés à 300 ml de méthanol à 70 %, le mélange est porté à ébullition dans un bain Marie durant 30 min puis filtré sur un papier Wattman, par la suite le filtrat est placé dans un évaporateur [11]. Les extraits obtenus sont conservés au réfrigérateur à $+ 4^\circ\text{C}$ jusqu'à utilisation ultérieure. Afin d'estimer l'efficacité des extraits sur le charançon du blé *Sitophilus granarius* quatre doses d'extrait (1000, 500, 250 et 120 mg/ml) sont préparées par dissolution dans l'eau distillé. Les dilutions testées ont été préparés selon le protocole des tests de sensibilité avec des concentrations multipliées (Progression de raison r^2)

standardisés par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.), pour des insecticides utilisés en campagnes de lutte [12; 13; 14].

2.2. Bio essais de l'activité insecticide des extraits du Bigaradier

Les bio-essais sont effectués au laboratoire dans des boîtes de Pétri 9 cm de diamètre, à une température moyenne de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, une humidité relative de $85 \pm 5\%$. Les modes d'action sont effectués par deux applications, respectivement une par contact direct et une deuxième par ingestion. Un lot de 10 insectes adultes prélevés du milieu d'élevage est introduit dans les boîtes de Pétri, tapissées avec du papier filtre, où les différents extraits (Extrait aqueux de feuilles et de fruits de *Citrus aurantium* et l'extrait méthanolique de feuilles et de fruits de *C. aurantium*, de deux régions montagneuse et sub-littorale avec les différentes doses) sont pulvérisés directement. Chaque lot de blé, pesant environ 5 grammes, est pulvérisé par les différents extraits, par la suite nous avons introduit la population cible au niveau du lot traité. Les boîtes, contenant 10 individus adultes sont fermés et placés dans la chambre d'élevage. Pour le lot témoin, une pulvérisation à l'eau courante est appliquée. Trois répétitions sont effectuées pour chaque dose et le dénombrement des insectes adultes morts est effectué toutes les 24 heures pendant 7 jours.

2.3. Calcul des taux de la mortalité

Le pourcentage de mortalité de Charançon du blé traité par les différents extraits est calculé par la formule suivante [15]:

$$\text{Taux de mortalité}\% = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total des individus}} \times 100$$
 La mortalité observée a été exprimée selon la formule d'Abbott [16] en mortalité corrigée, tenant compte la mortalité naturelle observée dans les lots témoins.

2.4. Calcul de DL50 et TL50

Le Temps létal 50 (TL50) est calculé à partir de la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des temps de traitement [17; 18]. La formule de Finney [19] et la table des probits sont utilisées à cet effet. Pour calculer la dose létale 50 (DL50), les doses sont transformées en logarithme décimaux et les valeurs de mortalité corrigée en probits en se servant de la table des probits [3].

3. Analyse statistiques

Les résultats sont rapportés comme valeurs de trois répétitions (moyennes \pm erreur standard) sur la base d'un C.V. $<15\%$. Les comparaisons

des moyennes de mortalité sont suivies par le test d'ANOVA.

Parmi les variables participant le plus souvent à la variance totale, celles dont la contribution est significative au seuil de 0,05 ont été retenues. Le test est déroulé par le logiciel XLSTAT vers. 16 [20]. Les données ont été soumises à une analyse statistique au renfort de Systat (logiciel SPSS ver.12). Les analyses de la variance type GLM ont été réalisées à l'aide du test F pour les variables suivant la loi normale et réconforté par le test de Tukey. Les doses létales DL50 ont été déterminées par la méthode des probits selon Finney [19]. La mortalité a été corrigée par la formule d'Abbott [16]. Les temps létaux, requis pour la mort de 50% (TL50) des individus exposés aux différentes doses des extraits méthanoliques et aqueux, ont été estimés.

RESULTATS

1. Variation du taux de mortalité de *Sitophilus granarius* sous l'effet des phytopesticides

Le Tableau 1, montre le taux de mortalité du charançon du blé *S. granarius* sous l'effet des différents extraits appliqués (Extrait aqueux des feuilles et des fruits de *Citrus aurantium* et l'extrait méthanolique des feuilles et des fruits de *C. aurantium*). En référence aux pourcentage de mortalité, les résultats étalent que les différents extraits affichent une toxicité remarquable sur les individus de *S. granarius* par rapport au témoin ($p < 1\%$). Cependant, les extraits méthanoliques expriment un effet toxique remarquable sur les individus de *S. granarius* par rapport aux extraits aqueux. En revanche, les extraits à base des fruits du bigaradier *C. aurantium* signalent une toxicité accentuée par rapport aux extraits à base des feuilles. À partir des analyses, nous remarquons que le facteur dose enregistre un effet distinct sur le taux de mortalité des individus du charançon du blé *S. granarius* ($p < 1\%$). De plus, les extraits aqueux et méthanoliques obtenus de la région montagneuse produisent une meilleure efficacité à l'égard des individus de *Sitophilus* par rapport à la région sub-littorale. L'activité insecticide se trouve influencer par le mode d'action du phytopesticide, dont les résultats démontrent clairement une plus grande toxicité des

extraits du Bigaradier administrés par contact direct par rapport à celle attribuée par ingestion ($p < 1\%$) (Tableau 1). La figure 1, expose ici la variation de taux de mortalité de charançon du blé *Sitophilus granarius* sous l'influence de différents facteurs. Elle a été renforcée par le test Post Hoc dans le but de confirmer les traitements qui ont participé à la signalisation des différences significatives (Test ANOVA, Test G.L.M).

À partir des résultats obtenus par le modèle général linéaire (G.L.M), nous remarquons que le facteur traitement et le facteur temps présentent une distinction significative ($p < 5\%$), sur le taux de mortalité des individus de *Sitophilus granarius* (Fig. 2). Concernant l'effet temporel, les molécules bioactives montrent une toxicité progressive durant toute la période du suivi (Fig. 2 a). Quant à l'effet traitement sur le taux de mortalité des individus de *S. granarius*, nous remarquons que les extraits aqueux et méthanoliques à base du Bigaradier montrent un effet insecticide important dont la gravité du taux de mortalité signalée sous l'effet des différents extraits se détache distinctement du taux signalé chez le témoin (Fig. 2 b). La comparaison des taux de mortalité observées sous l'effet des différents extraits appliqués, il en ressort la dominance des extraits méthanoliques par rapport aux extraits aqueux. De plus, nous remarquons que les extraits à base des fruits du bigaradier sont moyennement toxique par comparaison aux extraits à base des feuilles. Le même test indique une efficacité graduelle des doses sur le taux de mortalité de la cible. L'activité insecticide des extraits obtenus des plantes d'origine sub-littorale reste moins conséquente par comparaison à l'activité insecticide enregistrée par les extraits d'origine montagneuse (Fig. 2 b).

Tableau 1: Effet de phyto-pesticide du Bigaradier *Citrus aurantium* sur le taux de mortalité du charançon du blé *Sitophilus granarius*

Mode d'action		Contacte				P-Value	Ingestion				P-Value
Régions		Région montagneuse		Sub-littorale			Région montagneuse		Sub-littorale		
Compartiments		Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	P-Value	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	P-Value
Molécules	Doses	Moy±E.S.	Moy± E.S.	Moy±E.S.	Moy±E.S.		Moy±E.S.	Moy± E.S.	Moy±E.S.	Moy±E.S.	
Extraits aqueux	D1	84,28±5,33a	76,66±5,58 b	80±4,98	73,33±5,63	F=136,394; p=0,0001***	40,47±2,75	31,04±2,01	30,47±2,75	29,51±2,23	F=133,47; p=0,0001*
	D2	80,33±5,72	72,38±6,11	75,71±5,62	67,14±7,06		30,47±2,75	22,87±1,98	20,47±2,75	21,44±2,03	
	D3	76,19±5,83	70,74±6,48	72,85±6,01	63,33±6,04		20,47±2,75	13,81±1,67	11,88±2,28	11,91±1,90	
	D4	70,00±6,04	64,76±6,62	68,57±6,33	58,09±6,20		11,88±2,28	12,85±2,35	4,25±1,57	12,85±2,35	
Extraits Méthanolique	D1	86,19±4,68	76,66±6,21	81,90±5,03	72,38±4,91	F=155,45; p=0,0001***	50,47±2,75	40,94±2,01	40,47±2,75	39,51±2,23	F=162,254; p=0,0001***
	D2	83,33±4,88	74,28±6,11	79,52±5,21	70,00±6,54		40,47±2,75	32,87±1,98	30,47±2,75	31,44±2,03	
	D3	79,99±5,09	70,00±5,63	76,19±4,90	67,14±6,31		30,47±2,75	23,81±1,69	21,88±2,28	21,94±1,90	
	D4	72,38±5,62	67,14±5,51	74,76±5,43	64,28±6,28		21,88±2,28	22,85±2,35	14,25±1,57	22,85±2,35	
Témoin		0,00±0,00					0,00±0,00				
P-Value (ANOVA)		F=517,42; p= 0,0001***					F-ratio=216,53; p=0,0001***				
P-Value (ANOVA)		F-ratio=200,59 ; p=0,0001***									

Moy±E.S.:Moyenne± Erreur standard;

NS: Non significative, * : significative à 5% ;** : significative à 1% ; ***: significative à 1%

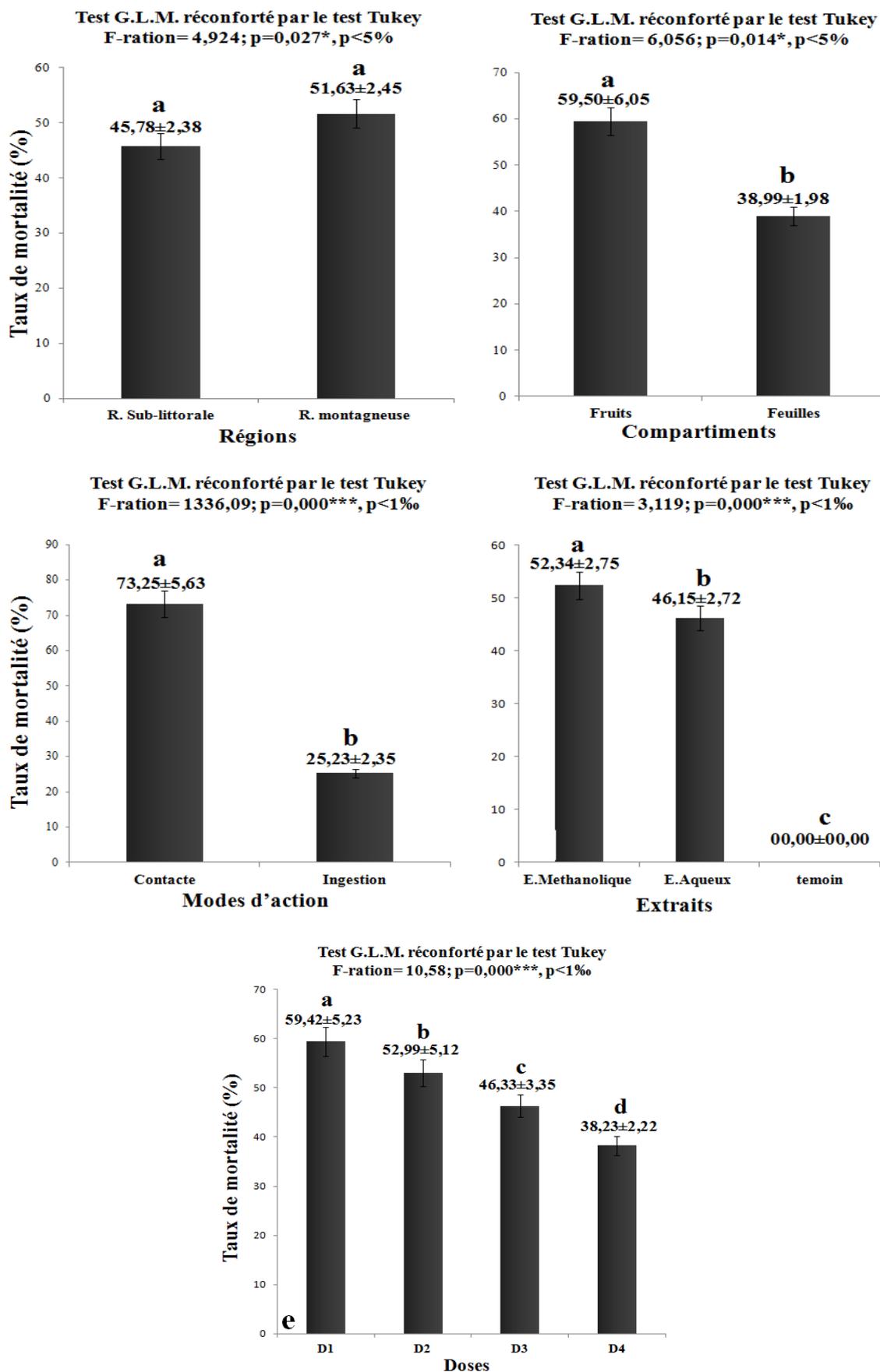


Figure 1: Effets d'administration, des doses, et des formulations sur le pouvoir insecticides des extraits de *Citrus aurantium* (L.) (Moyenne ±Erreur standard)

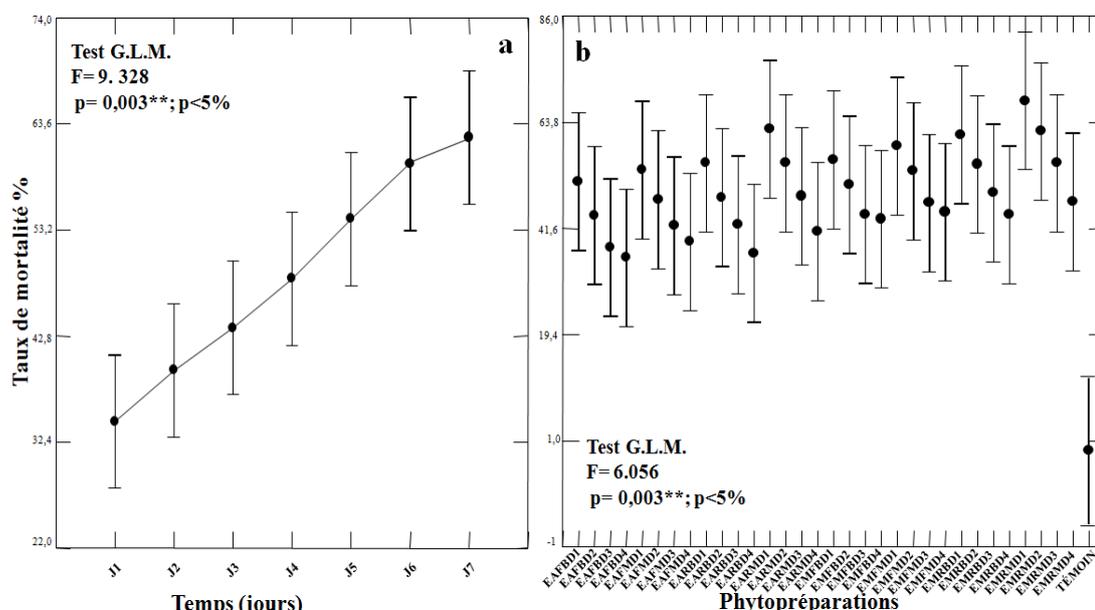


Figure 2: Estimation de l'efficacité des phyto-pesticides sur le taux de mortalité de *Sitophilus granarius*

2. Détermination de la dose létale 50 DL50 des extraits méthanoliques et aqueux de *Citrus aurantium*

Les équations des droites de régression obtenues nous permettent d'avoir un aperçu sur le degré de toxicité des extraits méthanoliques et aqueux du bigaradier au travers de leur dose létale DL50. D'après le tableau 2, les DL50 diffèrent selon l'origine de la plante productrice de l'extrait, du compartiment, du type d'extraction et du mode d'action de l'extrait. Les DL50 les plus faibles sont enregistrées suite à l'utilisation des extraits méthanoliques se qui confirme le degré élevé de toxicité de ces extraits vis-à-vis la cible par rapport aux extraits aqueux. La dose létale se trouve influencer par le mode d'action des extraits, et par conséquent elle apparaît suivre à un gradient positif mode par contact < par ingestion. Pour les extraits aqueux agissant en contact les résultats démontrent que, la meilleure valeur de DL50 est enregistrée au 1^{er} jour pour l'extrait aqueux issu de fruits de bigaradier collectées de la région montagneuse, soit 107,555 mg/ml. Cependant, pour les extraits méthanoliques la DL50 la plus faible est signalée suite à l'utilisation des extraits méthanoliques de fruits obtenus de la région sub-littorale, soit 60,494 mg/ml. Tandis que pour le mode ingestion, la DL50 la plus remarquable est obtenu avec l'extrait aqueux et méthanoliques de fruits de *Citrus aurantium* obtenus de la région montagneuse et sub-littorale, soit 780,530 mg/ml. Ces résultats montrent que la cible *S.*

granarius a été plus sensible aux extraits méthanoliques de *C. aurantium*.

3. Evaluation des temps létaux 50 TL50 des extraits méthanoliques et aqueux de *Citrus aurantium*

Les calculs de temps létaux 50% TL50 des différents extraits testés sur les individus de *Sitophilus granarius*, ont été effectués en dressant la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes des temps (jours) de traitement (Tableau 3). Le TL50 renseigne sur l'importance de l'effet de différents extraits du Bigaradier testés dans le temps. Le temps létaux des individus exposés aux différentes concentrations des extraits appliqués varient selon la méthode d'extraction, la partie utilisée de la plante, l'origine de la plante utilisée et la dose préconisée. Les résultats montrent que les TL50 sont positivement corrélés aux concentrations en extrait testé. Par contact, les TL50 les plus courts sont enregistrés respectivement 0,865 et 0,897 jours pour l'extrait méthanoliques de fruits de *Citrus aurantium* obtenus de la région montagneuse et l'extrait aqueux de fruits obtenus de la région sub-littorale. Tandis que pour le mode ingestion, le TL50 le plus probable est obtenu avec l'extrait aqueux et méthanoliques de fruits de *Citrus aurantium* obtenus de la région montagneuse, soit 8,6461 jours. La rapidité d'action des extraits du Bigaradier menées par le mode contact est beaucoup plus marquée par rapport à celle attribuée par le mode de traitements ingestion.

Tableau 3. TL50 (en jours) des individus de *Sitophilus granarius* exposés aux extraits méthanolique et aqueux de *citrus aurantium*

Extraits	Organes	Doses	Contact						Ingestion					
			Région Montagnaise			Région Sub-littorale			Région Montagnaise			Région Sub-littorale		
			Equation	R ²	TL50 (jrs)	Equation	R ²	TL50 (jrs)	Equation	R ²	TL50 (jrs)	Equation	R ²	TL50 (jrs)
Extraits aqueux	Fruits	D1	$y = 5,3009x + 4,2329$	0,5717	1,395	$y = 1,6321x + 5,0769$	0,9053	0,897	$y = 0,5889x + 4,4483$	0,8321	8,6461	$y = 3,6135x + 0,9092$	0,7071	13,555
		D2	$y = 2,0377x + 4,9299$	0,8242	1,082	$y = 1,6013x + 4,9273$	0,9302	1,110	$y = 0,6507x + 4,1373$	0,8558	21,1740	$y = 0,6507x + 4,1373$	0,8558	21,174
		D3	$y = 1,7512x + 4,8945$	0,8337	1,149	$y = 1,6561x + 4,8086$	0,9002	1,305	$y = 0,8336x + 3,7086$	0,8915	35,41	$y = 0,8336x + 3,7086$	0,8915	35,415
		D4	$y = 1,5742x + 4,7659$	0,7883	1,408	$y = 1,6026x + 4,6938$	0,8845	1,553	$y = 1,0273x + 3,2227$	0,8384	53,71	$y = 1,0287x + 3,2234$	0,8417	53,338
	Feuilles	D1	$y = 1,6168x + 4,9564$	0,9158	1,408	$y = 1,5742x + 4,8587$	0,9078	1,230	$y = 0,4781x + 4,1536$	0,3856	58,93	$y = 0,5276x + 4,1762$	0,8013	36,426
		D2	$y = 1,6655x + 4,7909$	0,8819	1,335	$y = 1,7716x + 4,588$	0,7792	1,708	$y = 0,5686x + 3,9475$	0,8792	70,96	$y = 0,5296x + 3,918$	0,7212	110,421
		D3	$y = 1,7377x + 4,6972$	0,8778	1,494	$y = 3,4109x + 3,2983$	0,8861	3,154	$y = 0,749x + 3,4929$	0,9794	102,84	$y = 0,7937x + 3,368$	0,8368	113,813
		D4	$y = 1,6011x + 4,5761$	0,9204	1,840	$y = 1,3446x + 4,5177$	0,8186	2,314	$y = 1,1464x + 3,2074$	0,9088	15 155,3	$y = 1,1464x + 3,2074$	0,9088	36,617
Extraits méthanolique	Fruits	D1	$y = 5,1449x + 4,3819$	0,5647	1,319	$y = 1,8873x + 5,0645$	0,8255	0,9243	$y = 0,576x + 4,7065$	0,8345	3,232	$y = 0,5889x + 4,4483$	0,8321	8,6463
		D2	$y = 1,8861x + 5,118$	0,8911	0,865	$y = 1,6715x + 5,0434$	0,8804	0,942	$y = 0,5889x + 4,4483$	0,8321	8,646	$y = 0,6507x + 4,1373$	0,8558	21,1745
		D3	$y = 1,661x + 5,0632$	0,9087	0,916	$y = 1,4662x + 5,0068$	0,8998	0,9894	$y = 0,6507x + 4,1373$	0,8558	21,174	$y = 0,6031x + 3,8894$	0,7773	69,4201
		D4	$y = 1,5128x + 4,8652$	0,8286	1,228	$y = 1,5377x + 4,9236$	0,9178	1,1212	$y = 0,6031x + 3,8894$	0,7773	69,420	$y = 0,3913x + 3,7062$	0,489	2 024,95
	Feuilles	D1	$y = 2,059x + 4,8059$	0,7519	1,242	$y = 1,8873x + 5,0645$	0,8255	0,9243	$y = 0,4445x + 4,5355$	0,8789	11,0916	$y = 0,4713x + 4,4828$	0,7905	12,513
		D2	$y = 1,7775x + 4,8192$	0,8069	1,264	$y = 1,6715x + 5,0434$	0,8804	0,942	$y = 0,4608x + 4,3112$	0,8713	31,245	$y = 0,6965x + 3,8776$	0,8913	40,877
		D3	$y = 1,4391x + 4,8167$	0,8659	1,341	$y = 1,4662x + 5,0068$	0,8998	0,9894	$y = 0,6965x + 3,8776$	0,8913	40,877	$y = 0,4279x + 4,2885$	0,7109	46,001
		D4	$y = 1,3544x + 4,7654$	0,9053	1,49	$y = 1,5377x + 4,9236$	0,9178	1,1212	$y = 0,5024x + 4,0151$	0,955	91,283	$y = 0,516x + 3,9437$	0,7972	111,453

Tableau 2: Valeurs des doses létales 50 des différents extraits utilisés sur les individus de *Sitophilus granarius*

Modes d'action	Extraits		Extraits aqueux		Extraits méthanolique	
	Régions	Organes	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles
Contact	Région montagnaise	Equation	$y = 0,366x + 4,255$	$y = 0,37x + 3,994$	$y = 0,37x + 4,334$	$y = 0,29x + 4,303$
		R ²	R ² = 0,9665	R ² = 0,9767	R ² = 0,9767	0,9992
	DL50 (Mg/ml)	107,555	523,502	63,095	253,191	
	Région sub-littorale	Equation	$y = 0,37x + 4,119$	$y = 0,276x + 4,167$	$y = 0,276x + 4,507$	$y = 0,37x + 3,994$
R ²		R ² = 0,9767	R ² = 0,9991	0,9991	0,9767	
Ingestion	Région montagnaise	Equation	$y = 0,92x + 2,339$	$y = 0,696x + 2,611$	$y = 0,93x + 2,226$	$y = 0,61x + 3,122$
		R ²	R ² = 0,9989	R ² = 0,897	R ² = 0,9967	R ² = 0,8941
	DL50 (Mg/ml)	780,53	2 685,48	961,160	1 198,63	
	Région sub-littorale	Equation	$y = 1,05x + 1,705$	$y = 0,696x + 2,611$	$y = 0,92x + 2,339$	$y = 0,61x + 3,122$
R ²		R ² = 0,9937	R ² = 0,897	R ² = 0,9989	R ² = 0,8941	
DL50 (Mg/ml)	1 374,34	2 685,48	780,53	1 198,63		

DISCUSSION

Les résultats de la présente étude montrent que la plante du bigaradier *Citrus aurantium* possède une propriété insecticide remarquable à l'égard du charançon du blé *Sitophilus granarius*. Cette activité insecticide, varie en fonction de l'origine de la plante productrice de l'extrait, du compartiment, du type d'extraction, de la dose appliquée et du mode d'action. L'analyse des données a montrée un pouvoir insecticide satisfaisant des différents extraits de *C. aurantium*, cela suppose que les extraits obtenus contiennent diverses molécules bioactives libérées au cours du processus d'extraction. Cette hypothèse est consolidée par une littérature assez riche qui stipule que *Citrus aurantium* contient des substances naturelles défensives qui ont servi comme insecticide depuis longtemps. *Citrus aurantium* est un arbre appartenant à la famille de Rutaceae [21; 22], utilisé souvent en pharmacopée traditionnelle à des fins thérapeutiques. Plusieurs auteurs ont été signalés que activité biologique *Citrus aurantium* pourrait être due à la composition chimique du bigaradier constituée majoritairement de limonène, appartenant aux monoterpènes qui sont célèbres pour leur effet insecticide envers plusieurs espèces d'insectes [23; 24; 25]. D'après Seri-Kouassi *et al.* [26], la toxicité des bioproduits sur les insectes est induite par l'action de leurs composés majoritaires. Plusieurs plantes ont prouvé leur potentiel insecticide contre les insectes [27; 28]. Le Bigaradier *Citrus aurantium* est parmi les plantes les plus utilisées pour son activité

Antioxydantes [29], Antifongique [30], antimicrobiennes [22], antibactériennes [29] et insecticides [24]. Nos résultats corroborent à celles d'autres chercheurs qui signalent que les essences du bigaradier exercent des effets insecticides sur une large gamme d'insectes [30; 31; 24; 23; 32; 33]. Dans le présent travail les résultats obtenus démontrent que l'effet toxique des extraits méthanoliques et aqueux des organes de *Citrus aurantium* varie d'un organe à un autre. L'extériorisation des toxicités d'un compartiment par rapport à un autre ne peut s'expliquer que par la performance de synthèse et/ou d'accumulation des tissus de ce dernier. D'après Djeddi [34], la différence d'action entre les extraits de différents compartiments d'une plante pourrait être expliquée par une différence de composition chimique et une dissemblance quantitative et qualitative entre ces compartiments. Plusieurs études montrent que, les plantes peuvent synthétiser plusieurs molécules, la composition de l'ensemble varie quantitativement et qualitativement en fonction de la partie utilisée de la plante, l'âge de la plante et la période du cycle végétatif. Il est donc possible d'extraire différents composants issus d'une même plante qui produisent différents propriétés thérapeutiques [35; 36; 37]. Dans le présent travail, les résultats obtenus, démontrent que les extraits de la plante *C. aurantium* prélevée de la région montagnaise (Médéa) produisent un effet toxique remarquable sur les individus de *S. granarius* par rapport aux extraits de la région la région Sub-littorale (Blida).

La capacité de la plante de synthétiser différentes molécules défensives (protection et/ou correction) est étroitement liée à sa valence écologique. Cette dernière, est due au pouvoir de la plante à s'adapter et à supporter les variations des conditions environnementales. En outre, la qualité et la quantité des métabolites des extraits varient de façon sensible avec le milieu d'implantation des plantes. Dans la nature, les plantes sont constamment influencées et soumises à des variations environnementales [38], en réponse aux conditions environnementales sous- et supra-optimales, les plantes expriment des variations au niveau de leur croissance et de leur développement [39]. D'après Amarti et al. [35], les variations qualitatives et quantitatives rencontrées dans la composition chimique, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, ou même à des facteurs génétiques. De nombreux travaux, montrent que le changement de température, précipitation, la période de la journée, la durée d'ensoleillement et l'amplitude thermique entre le jour et la nuit affectent directement la physiologie et la biochimie des plantes [40; 41]. L'étude de Burkett et al. [42], montre également que l'humidité influe sur le processus métabolique des plantes. Selon Hughes [42], la concentration atmosphérique de dioxyde de carbone a des effets directs sur la physiologie et le taux métaboliques. Les résultats mettent en évidence l'action toxique des extraits obtenus de la région montagneuse. Salvi et al. [43], signalent qu'en altitude, pour se protéger du rayonnement solaire, les plantes synthétisent des substances de défense aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. Ces molécules sont alors visées pour la recherche pharmaceutique. Par ailleurs, nous remarquons à travers cette étude que les potentialités biocides s'accroissent avec l'augmentation des doses des extraits. Nos résultats sont confirmés par ceux trouvés par Rahuman et al. [44], qui ont montré que le degré de toxicité des extraits est en rapport avec la dose utilisée. Le taux de mortalité des individus de *S. granarius*, nous a conduits à admettre que les extraits méthanoliques de *Citrus aurantium* provoquent une toxicité remarquable en comparaison avec les extraits aqueux. Ces résultats nous permettent de suggérer que la variation de toxicité est en rapport avec les méthodes d'extraction et les solvants utilisés. Kamaraj et al. [45], montrent que l'effet insecticide des extraits est en relation avec le type d'extrait.

L'analyse des données a montré un pouvoir insecticide satisfaisant des extraits, qui agissent par contact, comparés aux extraits agissant par ingestion. D'après Tahiri et al. [46], le mode d'action est un facteur essentiel à l'efficacité des extraits. L'étude toxicologique nous renseigne sur l'importance de l'effet des extraits appliqués. L'analyse montre que les meilleures DL50 sont égales respectivement à 60,494 et 107,555 mg/ml pour l'extrait méthanolique et aqueux lorsque les extraits sont administrés par contact et à 780,53 mg/ml, pour l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux lorsque les extraits sont administrés par ingestion. Les résultats étalent que les extraits agissant par contact montrent une rapidité d'action plus intéressante contre *Sitophilus granarius*, dont le TL50 le plus probable est obtenu avec l'extrait méthanolique de fruits issue de la région montagneuse et l'extrait aqueux de fruits obtenus de la région sub-littorale, est respectivement 0,865 et 0,897 jours, comparé à ce qui est donné par les extraits agissant par ingestion avec une TL50 = 8,6461 jours pour l'extrait aqueux et méthanolique de fruits de *Citrus aurantium* obtenus de la région montagneuse. D'après Karahacane [32], la DL50 et le TL50, obtenus par l'activité insecticide des extraits aqueux de *Citrus aurantium* contre *Tribolium castaneum* L, ont été trouvés de l'ordre de 440,55 g/l et 8,80 J. Douiri et al. [23], ont trouvés également des résultats intéressants concernant l'activité de *Citrus aurantium* sur les individus de *Callosobruchus maculatus*, avec une DL50 de 220,99 à 50,87 µl/l d'air pour les femelles et 257,38 µl/l à 54,21 µl/l d'air pour les mâles. Selon El Akhal et al. [24], la DL50, obtenue par *Citrus aurantium* contre *Culex pipiens*, a été trouvée de l'ordre de 139,48 ppm.

CONCLUSION

Cette étude a été menée dans le cadre de l'évaluation de l'efficacité des extraits de *Citrus aurantium* par différents modes d'administration sur le charançon du blé *Sitophilus granarius*. L'ensemble des extraits ont montré un fort pouvoir insecticide sur la cible étudiée. Cet effet biocide varie en fonction de l'origine de la plante productrice de l'extrait, de l'organe utilisé, du type d'extraction, de la concentration des doses et du mode d'administration de l'extrait. Les résultats montrent que l'effet de choc signalé sur *Sitophilus granarius* présente une gradation de toxicité allant des extraits méthanoliques aux

extraits aqueux. De plus, les extraits obtenus des plantes originaires de la région montagneuse exercent une pression très importante sur les individus de *S. granarius* comparé aux extraits obtenus des plantes issues de la région sub-littorale. Par référence aux TL50 et aux DL50, les extraits administrés par contact direct ont montré un effet toxique plus intéressant sur le taux de mortalité de *S. granarius* par rapport aux extraits administrés par ingestion. Des recherches restent à développer principalement sur la détermination des caractéristiques des molécules bioactives des extraits de plante de manière à pouvoir mieux exploiter ces ressources phylogénétiques naturelles. Donc, il serait intéressant de pousser les explorations afin de sécuriser les principes actifs par des formulations prolongeant l'activité des biocides inertes dans les conditions naturelles.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Bouzeraa H. (2014).** Evaluation de l'impact de deux mimétiques de l'hormone de mue (RH-2485 et RH-5992) sur les gonades males d'*Ephesia kuehniella*, un Lépidoptère ravageur des denrées stockées: aspect structural, biochimique et hormonal. Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université Badji-Mokhtar Annaba, Algérie. 100 p.
- [2]. **Sain-Tlebe L. (1991).** L'assainissement et la conservation des aliments par ionisation. *Association des ingénieurs en génie atomique du Maroc A.I.G.A.M.*, 21-28.
- [3]. **Ndomo A. F., Taponjdjou A.L., Tendonkeng F., Tchouanguép F. M. (2009).** Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *TROPICULTURA*, 27 (3):137-143.
- [4]. **Ahmad, L. (2016).** Stockage des céréales: L'Algérie doit développer ses capacités de stockage. http://www.lemaghreb.dz.com/?page=detail_actualite&rubrique=Agriculture&id=79331.
- [5]. **Ferron P. (2000).** Bases écologiques de la protection des cultures gestion des populations et aménagement de leurs habitat. *Courrier de l'environnement de l'INRA.*, 41: 33-41.
- [6]. **Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent C. (2006).** Biopesticides d'origine végétale. *TROPICULTURA*, 24(2): 128.
- [7]. **Ngamo L.S.T., Hance Th. (2007).** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *TROPICULTURA*, 25(4): 215-220
- [8]. **Gomez P., Cubillo D., Mora G.A., Hilje L. (1997).** Évaluations de possibles repelentes de *Bemisia tabaci*. II. Extractos vegetales. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 29: 17-25.
- [9]. **Loucif Z., Bonafonte P. (1977).** Observation des populations du pou de San José dans la Mitidja. *Rev. Fruits*, 32: 253-261.
- [10]. **Sanogo R., Diallo D., Diarra S., Ekoumon C., Bougoudougou F. (2006).** Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et la cystite au Mali. *Mali Medical*, 1: 18-22.
- [11]. **Chavan U.D., Shahidi F., Naczk. M. (2001).** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 75: 509-512.
- [12]. **Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (1963).** Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. *Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides*, Genève : OMS, Série de Rapport Technique N° 265, 125p.
- [13]. **Brengues J., Coosemans M. (1977).** Sensibilité et résistance des insectes aux insecticides en Afrique tropicale. *Entomologiste médicaux de l'ORSTOM*, 6.539 : 2-23.
- [14]. **Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (2017).** Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme. Seconde édition du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, ISBN 978-92-4-251157-4, 48p.
- [15]. **Marmonnier P., Lagadeuc Y., Aquilina L. (2006).** *Introduction à l'écologie*, 36p.
- [16]. **Abbott W.S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- [17]. **Ould El Hadj M. D., Tankari Dan-Badjo A., Halouane F. 2003.** Étude comparative de la toxicité de trois substances acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *schistocerca gregaria* forskål, 1775 (Orthoptera, cyrtacanthacridinae). *Courrier du savoir*. 03:81-86.
- [18]. **Kemassi A., Boual Z., Ould El Hadj- Khelil A., Dadi Bouhoun M., Ould El Hadj M. D. (2010).** Activité biologique de l'extrait d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae) sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Acrididae). *Annales des Sciences et Technologie*, 2: 61-70.
- [19]. **Finney D.-J. (1971).** *Probit analysis*. 3rd ed., Cambridge, University Press, 333p.
- [20]. **SPSS, Inc. (2016).** SYSTAT 4.00 for windows, statistics and graphics.
- [21]. **Bureau L. (2014).** L'arrêt « Plantes et compléments alimentaires » : la phytothérapie remise en question. *Phytothérapie*, 12:265-283.
- [22]. **Oulebsir-Mohandkaci H., Ait Kaki S., Behidj-Benyounes N. (2016).** Phytochemical Study and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Insecticidal Activity of Essential Oils and Polyphenols of Bitter Orange (*Citrus Aurantium* L.). *Int'l Journal of Advances in Chemical Engg. & Biological Sciences (IJACEBS)*, 3:163-167.
- [23]. **Douiri L. F., Boughdad A., Moumni M. (2014).** Efficacité des huiles essentielles de *citrus aurantium* pour lutter contre *Callosobruchus maculatus* (f.) (Coleoptera, Bruchidae). RIPAM -1^{ère} rencontre internationale des jeunes chercheurs sur les plantes aromatiques et médicinales. Meknès - 21, 22 et 23 juin 2014.

- [24]. EL-Akhal F., Guemmouh R., Greche H., El Ouali Lalami A., (2014). Valorisation en tant que bio-insecticide de deux huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantium* cultivées au centre du Maroc. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (1): 2319-2324.
- [25]. Ibrahim M.A., Kainulainen P., Aflatuni A., Tilikkala K., Holopainen J.K. (2001). Insecticidal, repellent antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene dits suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science* in Finland, 10 (3): 243-259.
- [26]. Seri-Koussi B.P, Kanko C, Abouab L.R.N, Bekon K.A, Gliitho A.I, Koukoua G., Guessan Y.T. (2004). Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *C. R. Chimie*, 7 : 1043-1046.
- [27]. Bernays E.A., Chapman R.F. (1994). Host-plant selection by phytophagous insects. Contemporary topics in entomology; 2, New York: Chapman & Hall, 1994.
- [28]. Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Mahari S. (2006). Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* Pallas, *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10 (2): 67-71.
- [29]. Hellal Z. (2010). Contribution à l'étude des propriétés antibactérienne et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister., Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie, 78p.
- [30]. Hamdani D. (2012). Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques du bruche du Haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera : Bruchidae). Mém. Mag., Univ. Tizi-Ouzou, 97p.
- [31]. Khaled W., Zarrad K., Souguir S., Gasmi C., Tayeb W., Laarif A., Chaieb I. (2013). Chemical composition of essential oils of fruits of three ripening stages of bitter orange and their insecticidal potential against the aphid (*Myzus persicae*). *Microbiol. Hyg. Alim.*-Vol 25, N° 73 - juillet 2013 (4^{ème} Journée GEDIV 4 et 5 mai 2013), 107-111.
- [32]. Karahacane T. (2015). Activité insecticide des extraits de quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes du blé en post récolte. Thèse Doctorat Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) El-Harrach, Algérie. 139 p.
- [33]. Zarrad K., Chaieb I., Ben Hamouda A., Bouslama T., Laarif A. (2017). Chemical composition and insecticidal effects of *Citrus aurantium* essential oil and its powdery formulation against *Tuta absoluta*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 12: 83-94.
- [34]. Djeddi S. (2012). Les huiles essentielles «Des mystérieux métabolites secondaires». *Presses Académique francophone*, ISBN: 978-3-8381-9, 57p
- [35]. Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M., Chaouch A. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 14(1): 141-148.
- [36]. Mansard M. (2016). Le camphrier : étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles. Thèse Doctorat Université Lorraine, France, 113 p.
- [37]. Laurent J. (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse Doc., Univ. Toulouse, France, 219 p.
- [38]. Parent C., Capelli N., DaT j. (2008). Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes Reactive oxygen species, stress and cell death in plants. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4): 255-261.
- [39]. Antoun M. (2013). Effet de la température sur le développement chez *Arabidopsis thaliana*. Thèse Doctorat, Université du Québec, Montréal, 67p.
- [40]. Hughes L. (2000). Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution*, 15: 56-61.
- [41]. Tilman D., Reich P.B., Knops J., Wedin D., Mielke T., Lehman C. (2001). Diversity and productivity in a long-term grassland experiment. *Science*, 294: 843-845.
- [42]. Burkett V.R., Wilcox D. A., Stottlemeyer R., Barrow W., Fagre D., Baron J., Price J., Nielsen J.L., Allen C.D., Peterson D.L., Ruggerone G., Doyle T. (2005). Nonlinear dynamics in ecosystem response to climatic change: Case studies and policy implications. *Ecological Complexity*, 2: 357-394.
- [43]. Salvi A., Brühlmann C., Migliavacca E., Carrupt P.A., Testa B. (2002). Protein protection by antioxidant: Development of a convenient assay and structure-activity relationship of natural polyphenols. *Helv. Chim. Acta.*, 85, 867-881.
- [44]. Rahuman AA., Bagavan A., Kamaraj C., Saravanan E., Zahir AA., Elango G. (2009). Efficacy of larvicidal botanical extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.*, 104:1365-1372.
- [45]. Kamaraj C., Bagavan A., Rahuman A.A., Zahir AA., Elango G., Pandiyan G. (2009). Larvicidal potential of medicinal plant extracts against *Anopheles subpictus* Grassi and *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.*, 104(5):1163-1171.
- [46]. Tahiri A., Assi M., Amissa A. (2010). Toxicité et mode d'action des extraits de *Carica papaya* L. (Caricaceae) sur *Macrotermes bellicosus* Rambur (Isoptera ; Macrotermitinae). *Cah Agric.* 19 : 267-72.