
Travail de fin d'études: "Etude d'une formulation insecticide composée d'huile essentielle de Lippia alba et d'argiles locales sénégalaises contre Sitophilus zeamais (curculionidae)"

Auteur : Defat, Laura

Promoteur(s) : Fauconnier, Marie-Laure; 20746

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/17868>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**ÉTUDE D'UNE FORMULATION INSECTICIDE
COMPOSÉE D'HUILE ESSENTIELLE DE
LIPPIA ALBA ET D'ARGILES LOCALES
SÉNÉGALAISES CONTRE SITOPHILUS
ZEAMAÏS (CURCULIONIDAE)**

DEFAT LAURA

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIE**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022-2023

PROMOTEUR: FAUCONNIER MARIE-LAURE

Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique¹ de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur

¹ Dans ce cas, l'autorité académique est représentées par le(s) promoteur(s) membre du personnel(s) enseignant de GxABT

**ÉTUDE D'UNE FORMULATION INSECTICIDE
COMPOSÉE D'HUILE ESSENTIELLE DE
LIPPIA ALBA ET D'ARGILES LOCALES
SÉNÉGALAISES CONTRE SITOPHILUS
ZEAMAÏS (CURCULIONIDAE)**

DEFAT LAURA

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIE**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022-2023

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je voudrais remercier la Professeure Marie-Laure Fauconnier de m'avoir supervisé et d'avoir pu rendre ce travail possible. Je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance pour votre disponibilité, vos remarques, vos conseils et pour la patience dont vous avez fait preuve durant toute la durée de ce travail. Un remerciement particulier à Laura Lheureux, d'avoir été cette personne disponible qui m'a permis de rester calme dans les moments de panique. Merci pour tes conseils, ton sens critique, ton écoute sans faille, ton soutien et ton encadrement.

Merci à Dr.Gueye de m'avoir accueillie au laboratoire phytosanitaire de l'institut de technologie alimentaire à Dakar. La terenga n'est pas une légende et m'aura laissé une trace indélébile. Un merci particulier à Thiam et Serigne Mbacké Diop pour votre disponibilité et vos conseils. Binta Ndiaye remercie également toute l'équipe pour tous ces repas partagés, découvertes culturelles et gustatives. Jèrèjèf

Un tout grand merci à Franck et Thomas pour leur disponibilité et leur collaboration dans la bonne humeur. Merci aux doctorants, aux coTFistes et aux stagiaires du laboratoire LGMN de faire vivre ces murs dans la bonne entente et le respect de chacun.

Merci à Antoine Plumacker d'avoir pris le temps de m'expliquer les statistiques, à Jean-Francois Jamotton d'avoir relu l'orthographe et merci à Lallie Glacet pour sa relecture et ses précieux conseils. Merci à Tom d'avoir été mí compañoero en el crimen para el máster.

Je tiens à remercier ma maman de m'avoir donné toute la confiance de vivre cette expérience universitaire et de m'avoir soutenu corps et âme contre vents et marées. Merci à ma petite mamie et mon petit papi de m'avoir épaulé et d'avoir été ces piliers immobiles et rassurants depuis toujours. Merci à ma jums, mon frère, AL et ma couz pour leurs soutiens, leur joie de vivre communicative, mais aussi d'avoir su trouver les mots lors des moments difficiles. Merci à l'étoile la plus lumineuse de me guider chaque jour vers une meilleure version de moi-même.

Je remercie ces vieux murs de Gembloux d'avoir attisé ma curiosité un peu plus tous les jours et d'avoir été l'entité de ces années mouvementées. À travers ces vieux murs, j'ai pu rencontrer une bande de **Croutons Boiteux** avec qui j'ai passé des moments inoubliables tout en endossant des responsabilités pour l'accomplissement de guindailles colossales (Big up à Bosh, Troll, Malibu, Lallie, Blabla, Ellebout, Hibou, Flèche, Louise, Gyps, Jonnhy, Frannoix, Orion, Curine). Merci aussi à ces murs de m'avoir amené une bande de pote qui rigole aux blagues que je lâche entre deux conversations tumultueuses, agrémenté de breuvage houblonné et aspéruleux. (Big up à Ca va les gonzes, Germouille, Calvi, Floche, Camille).

Évidemment, je remercie le Kot Blokker d'avoir comblé les moments de zonage par des moments de jardinage intensifs. Merci pour tous ces moments partagés Vyckeekicketing, Amé, Sachatte, Maev, Bourlon, Black-t, Blabla, Bigou, Benja, Rob2, Maoui, André, Alizé, Jerem, Adan, Nils, Baba, Martin, Clem, Josi. (Big up aux meufs/darons pour tous ces moments de bienveillance et d'euphorie contagieuse). Merci à la team de Namur et santé à tous les jeudi à venir (Big up à Vianney et Alix). Merci aussi à mes amis depuis toujours d'être présent quoi qu'il arrive. (Alix, Marine, Lucas, Alexy, Julie, Cyril,).

Ce travail est l'aboutissement de l'évolution de mon pokémon (Laura Defat → Laura Dégâts → Laura la sage), et je remercie toutes les personnes incroyables qui ont fait partie de ma vie jusqu'à présent. C'est grâce à vous que j'ai eu persévérance, la pesrévrance, la persévrance, la per-sé-vé-rance de donner le meilleur de moi-même même.

RÉSUMÉ

Le Sénégal met en place un plan stratégique qui fixe l'élimination de l'insécurité alimentaire en tant que priorité absolue d'ici 2035. Un des problèmes actuels liés à cette thématique est les pertes post-récoltes des denrées stockées. *Sitophilus zeamais* (Curculionidae) figure parmi les plus importants insectes ravageurs des denrées céréalieres à l'échelle mondiale et est donc une cible spécifique à éliminer pour minimiser ces pertes. Cependant, en vue d'une action durable, les méthodes de luttés chimiques actuellement employées doivent être revues pour éviter une perte en efficacité et des impacts négatifs sur l'environnement et la santé humaine. Pour ce faire, la notion de gestion intégrée en combinant plusieurs méthodes de lutte semble être une alternative en adéquation avec les enjeux actuels. Le travail tente de formuler un insecticide en valorisant des ressources locales à savoir l'huile essentielle de *Lippia alba* et deux argiles locales. L'insecte ciblé est *Sitophilus zeamais*, ravageur primaire du maïs. Les composés majoritaires de l'HE de *L. alba* utilisée sont respectivement le limonène (37,5%), le gèranial (22,4%) et le néral (17,5%).

Le premier objectif de ce travail a été d'étudier l'activité toxique et répulsive de *L. alba* contre *S. zeamais* à travers la fumigation, le contact et la répulsion. Ensuite, les activités insecticides de la poudre d'argile et de la formulation argile-HE ont été testées par contact. Pour compléter l'analyse, une observation de la cuticule des insectes a été réalisée. Ensuite, une cinétique qualitative sur 96 h du relargage des composés terpéniques d'intérêt par la formulation est réalisée en utilisant un système de collecte des composés volatils suivie d'une analyse par GC-MS. Enfin, le pouvoir adsorbant des argiles est évalué à travers une cinétique d'extraction du limonène, composé le plus abondant dans l'HE de *L. alba*, adsorbé sur les différentes argiles : deux argiles locales et la montmorillonite, utilisée comme témoin positif. L'huile essentielle de *L. alba* a montré une activité pour les deux moyens d'application (fumigation et contact) contrairement aux argiles locales seules et en formulation qui ne possèdent pas d'activité insecticide. La montmorillonite, quant à elle, présente un effet insecticide seule et en formulation. La cinétique qualitative du relargage des molécules terpéniques révèle que dans cette étude la formulation entre l'huile essentielle et les argiles ne possède pas d'effet de relargage lent. Les argiles ne possèdent pas un pouvoir adsorbant élevé.

Mots clés : bioinsecticide, huile essentielle, *Lippia alba*, *Sitophilus zeamais*, contact, fumigation, argiles, montmorillonite

ABSTRACT

Senegal is currently implementing a strategic plan which places the elimination of food insecurity as a key priority by 2035. One of the main issues associated with this goal are the post-harvest losses of stored food products. *Sitophilus zeamais* (Curculionidae) is a crucial insect pest for cereal crops and is a specific target for elimination to minimize these losses. However, chemical control methods need to be reviewed to ensure sustainable action and to avoid negative impacts on the environment and human health. To address this, the project proposes an integrated management approach that combines several control methods using local resources. The aim is to develop an insecticide using *Lippia alba* essential oil and two local clays that can effectively target *Sitophilus zeamais*. The main compounds found in the *L. alba* EO are limonene, geranial, and neral.

The first objective of the study is to test the toxic and repellent properties of *L. alba* against *S. zeamais* through various modes of delivery. The insecticidal activities of clay powder and clay-HE formulation are also evaluated, specifically tested through physical contact with the insects. The analysis is further completed by observing the insect cuticle and conducting qualitative kinetics over 96 hours to determine the rate of release of terpene compounds present in the formulation.

The results show that *L. alba* essential oil is effective through both fumigation and contact means of application, whereas the local clays alone or in formulation have no insecticidal activity. Montmorillonite is found to have an insecticidal effect, both on its own and in formulation. Qualitative kinetics of terpene molecule release reveal no slow-release effect in the formulation between the essential oil and the clays. Lastly, the adsorption capacity of clays, and specifically limonene, is found to be low.

Keywords : bioinsecticide, essential oil, *Lippia alba*, *Sitophilus zeamais*, contact, fumigation, clays, montmorillonite

TABLE DES MATIERES

Remerciements	5
Résumé.....	6
Abstract	7
Liste des figures.....	10
Liste des tableaux.....	11
Liste des abréviations.....	13
1. Étude bibliographique	14
1.1 Contexte socio-économique	14
1.2 Politique de développement envisagée : Le Plan Sénégal Emergent	14
1.2.1 Caractérisation de l'agriculture sénégalaise	14
1.2.2 Régime alimentaire	16
1.2.3 Importance du maïs dans la lutte contre l'insécurité alimentaire	17
1.3 Problématique liée aux insectes nuisibles des denrées stockées	18
1.3.1 Généralités	18
1.3.2 <i>Sitophilus zeamais</i>	19
1.4 Méthode de lutte actuelle la plus efficace : la lutte chimique.....	20
1.5 Méthodes alternatives	21
1.5.1 Résistance variétale.....	21
1.5.2 Lutte physique	21
1.5.3 Lutte biologique.....	22
1.6 Utilisation des huiles essentielles comme méthode de lutte alternative	23
1.6.1 Définition.....	23
1.6.2 Chémotype et facteurs de variation.....	23
1.6.3 Huile essentielle en tant que bio insecticide.....	24
1.6.4 Relargage contrôlé de l'huile essentielle.....	26
2. Objectifs.....	28
3. Matériel et méthode	29
3.1 Matériel végétal : <i>Lippia alba</i>	29
3.2 Matériel animal : <i>Sitophilus zeamais</i>	30
3.3 Préparation du maïs	30
3.4 Expérimentations	30
3.4.1 Remarques préliminaires	30
3.4.2 Test du potentiel insecticide de l'huile essentielle de <i>L. alba</i>	30
3.4.3 Effet toxique induit par <i>Lippia alba</i>	31

3.4.4	Capacité répulsive de <i>Lippia alba</i>	32
3.4.5	Test du potentiel insecticide de <i>Lippia alba</i> avec de l'argile locale.....	33
3.4.6	Analyses instrumentales.....	35
4.	Résultats et discussion.....	37
4.1	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lippia alba</i>	37
4.2	Étude des propriétés insecticides de l'huile essentielle de <i>L. alba</i>	39
4.2.1	Fumigation.....	39
4.2.2	Contact	40
4.2.3	Répulsion	42
4.3	Valorisation des ressources locales sénégalaises pour formuler un bio-insecticide	43
4.3.1	Effet insecticide de l'argile seule	43
4.3.2	Effet insecticide de la formulation entre de l'argile locale et l'huile essentielle de <i>L. alba</i>	46
4.3.3	Rémanence de l'huile essentielle dans la poudre d'argile	48
4.3.4	Cinétique d'extraction du limonène.....	50
5.	Conclusion et perspectives	53
6.	Bibliographie.....	54
7.	Annexes	60
7.1	Figures complémentaires	60
7.2	Rendement d'extraction.....	62
7.3	Compositions de l'huile essentielle de <i>L.alba</i>	62
7.4	Tests statistiques	67

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Zones climatiques du Sénégal[9].....	15
Figure 2: Zones agroécologiques du Sénégal[9].....	15
Figure 3 : Cycle de développement du maïs [14].....	17
Figure 4: <i>Sitophilus zeamais</i> , vue dorsale	19
Figures 5: Distribution des études qui cible l'activité de plantes étudiées par famille visant les trois ravageurs des récoltes principaux à savoir, <i>Sitophilus oryzae</i> (charaçon du riz), <i>Sitophilus granarius</i> (charaçon du grenier) et <i>Sitophilus zeamais</i> (charaçon du maïs).	24
Figure 6: <i>Lippia alba</i>	26
Figure 7: <i>Lippia alba</i> vue globale	26
Figure 8: Dispositif d'extraction à la vapeur.....	29
Figure 9: Récupération de l'huile essentielle par décantation.....	29
Figure 10: Étapes de préparation du dispositif de fumigation.....	31
Figure 11: Dispositif de fumigation	32
Figure 12: Dispositif de répulsion avec « A » l'hémisphère traité et « B » l'hémisphère sans substance.....	33
Figure 13: Dispositif du système de collection de composés volatils; 1: filtre à charbon actif; 2: dispositif en tête d'éléphant contenant l'échantillon à analyser, 3: cartouche d'adsorption/désorption, 4: Pompe GilAir plus	35
Figure 14 : Graphique du taux de mortalité de <i>S. zeamais</i> par fumigation de différentes concentrations en huile essentielle de <i>Lippia alba</i> en fonction du temps. Les concentrations sont fonction du volume d'air du bocal qui est égal à 380mL d'air (n=5).....	40
Figure 15: Graphique du taux de mortalité de <i>S.zeamais</i> par contact de différentes concentrations en huile essentielle de <i>L. alba</i> en fonction du temps. (n=5)	41
Figure 16: Graphique du taux de mortalité de <i>S.zeamais</i> par contact de différentes argiles d'argile en fonction du temps (n=5).....	44

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques agroécologiques des différentes régions du Sénégal [9].....	15
Tableau 2 : Consommation de céréales de base au Sénégal en 2017 [10]	16
Tableau 3: Types et mode de stockage du maïs.....	18
Tableau 4: Liste de matière active autorisée dans les insecticides luttant contre les ravageurs des denrées stockées.....	20
Tableau 5: Composition chimique de <i>L.alba</i> récoltée en octobre 2022, analysée à la GC-MS et vérification des RI avec la littérature scientifique	37
Tableau 6 :Récapitulatif des composés naturels présents dans l’huile essentielle de <i>L.alba</i> qui possèdent un potentiel insecticide testé selon différents modes d’action sur différents insectes résumés dans la revue de Karabörklü et al.2023 [65] où « + » signifie que le composé possède un effet insecticide, « ++ » signifie que le composé possède une efficacité insecticide comparable aux insecticides chimiques et la case grise indique que le composé n’a pas été soumis à des recherches avancées. Les écritures en orange ciblent <i>S. zeamaïs</i> , en gris d’autres insectes ravageurs des récoltes.	38
Tableau 7: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes de l’échantillon témoins avec les moyennes des échantillons traités par différentes concentrations en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif	40
Tableau 8:P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes de l’échantillon utilisé comme témoin avec les moyennes des échantillons traités en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif	41
Tableau 9: Tableau du taux de répulsion de l'huile essentielle de <i>L. alba</i> par rapport au classement selon Mc Donald et al (1970) repris dans la section 1 dans l’annexe (n=5).....	42
Tableau 10: Classement des pourcentages de répulsion selon Mc Donald et al (1970).....	42
Tableau 11: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes de l’échantillon sans traitement avec les moyennes des échantillons traités en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif.....	44
Tableau 12: Distribution de la granulométrie réalisée au tamis présente dans chaque argile (%)	45
Tableau 13: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes des échantillon traités avec les différentes argiles avec les moyennes des échantillons non-traités en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif	46
Tableau 14 : P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes des échantillons traités avec l’argile seule avec les moyennes des échantillons traités avec la formulation argile + huile essentielle en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif.....	47
Tableau 15 : Classement des pourcentages de répulsion selon Mc Donald et al. (1970) [101]	61

Tableau 16: Composition de l'argile locale 1 analysée par Diffraction aux rayons X.....	61
Tableau 17: Composition de l'argile locale 2 analysée par Diffraction aux rayons X.....	62
Tableau 18: Rendements d'extractions.....	62
Tableau 19 : Composition chimique de <i>L.alba</i> juillet 2022 analysée par Ségolène Scrurs et Annaëlle Postiaux	62
Tableau 20: Composition chimique de <i>L.alba</i> juillet 2021 analysée par Florian Martini et Sarah Suffys	63
Tableau 21: : Composition chimique de <i>L.alba</i> juillet 2021 analysée par Soleiman Abir et Thomas De Zutter	64
Tableau 22: Taux de mortalité par fumigation de <i>Sitophilus zeamais</i> en fonction du temps selon une concentration	64
Tableau 23:Taux de mortalité par contact de <i>Sitophilus zeamais</i> en fonction du temps selon une concentration	65
Tableau 24: Taux de mortalité par contact d'argiles de <i>Sitophilus zeamais</i> en fonction du temps selon une concentration	65
Tableau 25: Taux de mortalité par contact de la formulation entre une argile et l'huile essentielle de <i>L.alba</i> de <i>Sitophilus zeamais</i> en fonction du temps selon une concentration	66
Tableau 26: Analyse des moyennes des échantillons n'ayant pas reçu de traitement avec les échantillons qui ont reçu un traitement par fumigation. Le test statistique appliqué est le test t utilisant la distribution de student	67
Tableau 27 :Analyse des moyennes des échantillons ayant été traité par l'huile essentielle seule avec les échantillons qui ont reçu un traitement par la formulation . Le test statistique appliqué est le test t utilisant la distribution de student	67
Tableau 28: Analyse des moyennes des échantillons n'ayant pas reçu de traitement avec les échantillons qui ont reçu un traitement par contact. Le test statistique appliqué est le test t.....	68
Tableau 29: Analyse des moyennes des échantillons n'ayant pas reçu de traitement avec les échantillons qui ont reçu un traitement de la formulation entre une argile de l'huile essentielle par contact. Le test statistique appliqué est le test t	69
Tableau 30: Analyse des moyennes des échantillons traités avec les différents argiles avec les moyenne n'ayant pas été traités e par contact. Le test statistique appliqué est le test t.....	69
Tableau 31: Analyse des moyennes des échantillons ayant été traités avec l'argile seule avec les moyennes des échantillons ayant été traités avec la formulation.. Le test statistique appliqué est le test t	70
Tableau 32: Abondance du limonène extrait par de l'hexane sur les différentes argiles testées lors de l'étude.....	70

LISTE DES ABRÉVIATIONS

%	Pourcent
°C	Degré Celsius
µm	Micromètre
APHLIS	African Post-harvest losses
CILSS	Comité inter-états de Lutte contre la sécheresse au Sahel
CIMMYT	Centre international d'amélioration du maïs et du blé
cm	Centimètre
CSP	Comité sahélien des pesticides
FAO	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
g	Gramme
GC-MS	Chromatographie en phase Gazeuse / Spectrométrie de Masse
h	Heure
ha	Hectar
HE	Huile essentielle
HR	Humidité relative
kg	Kilogramme
km ²	Kilomètre carré
<i>L.alba</i>	<i>Lippia alba</i>
mL	Millilitre
mm	Millimètre
PSE	Plan Sénégal Emergent
<i>S.zeamaïis</i>	<i>Sitophilus zeamaïis</i>
t	Tonne
α	Alpha
β	Beta

1. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 CONTEXTE SOCIO-ÉCONOMIQUE

Le Sénégal est situé à l'ouest d'Afrique. Il compte une population totale de 16,88 millions d'habitants et une croissance démographique de 2,6%. Il est resté un pays pacifique depuis son indépendance, en 1960, en dépit des trois alternances politiques qu'il a connues [1]. Cette stabilité lui a permis de figurer parmi les pays à croissance rapide d'Afrique subsaharienne. Son économie est diversifiée et les populations vivent principalement de l'agriculture [2].

Le secteur primaire qui représente la production de matières premières et de ressources naturelles recouvre seulement 14,6% du PIB du pays, mais occupe 60% de la population active, ce qui montre la faible performance du secteur [2]. Le secteur secondaire, celui de l'industrie, recouvre quant à lui 23,8% du PIB du pays. Enfin, le secteur tertiaire comprenant les services financiers, le tourisme, le commerce et les services publics est le secteur le plus important avec 60% du PIB du pays [3]. Cependant, le rapport sur le développement humain de 2019 prenant en compte le PIB par habitant, l'espérance de vie des citoyens et le niveau d'éducation mesuré à partir de 15 ans et plus, classe le Sénégal en 168^e position sur 189 pays.

1.2 POLITIQUE DE DÉVELOPPEMENT ENVISAGÉE : LE PLAN SÉNÉGAL EMERGENT

Le gouvernement sénégalais a mis en place le Plan Sénégal Emergent (PSE) comme moteur du développement économique et social d'ici 2035. Il vise à améliorer la croissance économique, la création d'emplois, la réduction de la pauvreté et l'amélioration des conditions de vie des citoyens. Pour atteindre ces objectifs, le gouvernement a élaboré une stratégie qui se concentre sur les secteurs prioritaires tels que l'agriculture, l'énergie, les infrastructures, le tourisme, l'industrie et les services. [4] L'élimination de l'insécurité alimentaire d'ici 2035 est placée en priorité absolue [5] L'un des points centraux vise à diminuer les pertes post-récoltes. À titre d'exemple, African Post-harvest Losses Information System (APHLIS) estime que les pertes post-récoltes s'élèvent à 16,2% en moyenne pour le maïs[6]. L'utilisation de pesticides de synthèse constitue l'un des moyens les plus efficaces pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées, mais leur impact négatif sur l'environnement, la santé humaine ainsi que l'apparition de gènes de résistance concentre la recherche sur des méthodes alternatives [7].

1.2.1 Caractérisation de l'agriculture sénégalaise

Le Sénégal dispose de plus de 19,25 millions d'hectares de terres, mais moins de 9,51 millions sont cultivés et 1,27 millions seulement sont des terres arables. Le pays est confronté à des niveaux de précipitation variables et des sols sablonneux, ce qui limite le rendement agricole [8] [9].

Les cultures principales sont l'arachide et le millet, qui représentent près de 75 % de la superficie plantée. Le maïs, le riz, le sorgho, le niébé et le coton constituent environ 25% des surfaces arables tandis que moins de 1% de la terre est utilisée pour d'autres cultures, dont font notamment partie les légumes[9].

Le Sénégal abrite 4 zones climatiques (

Figure 1) et 6 zones agroécologiques **Figure 2)**. La saison sèche va d'octobre à mai tandis que la

saison des pluies va de juin à septembre. Le **Tableau 1** résume les différentes opportunités agricoles en fonction de la situation géographique [9]

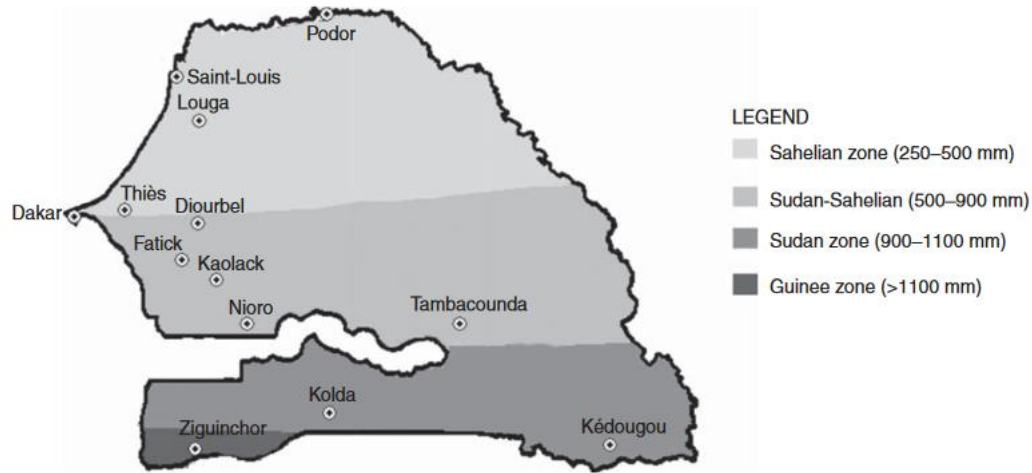


Figure 1: Zones climatiques du Sénégal [9]

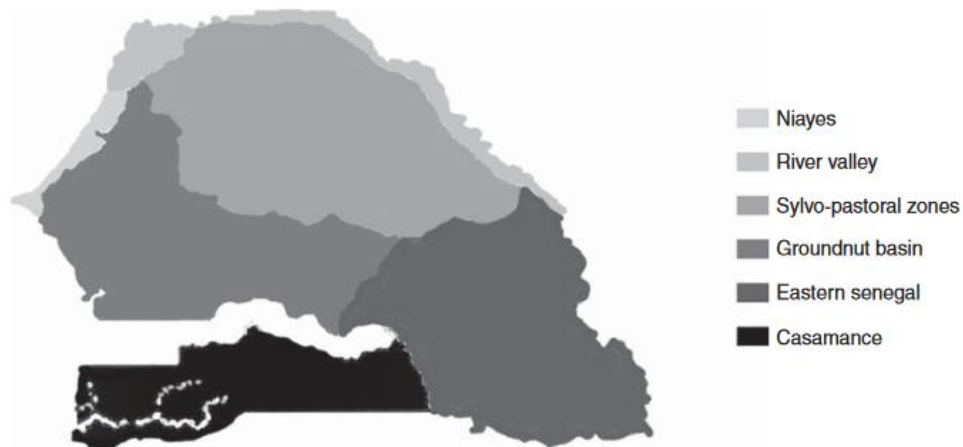


Figure 2: Zones agroécologiques du Sénégal [9]

Tableau 1 : Caractéristiques agroécologiques des différentes régions du Sénégal [9]

Région du Sénégal	Aires (km ²)	Caractéristiques agroécologiques de la région
Niayes	2 759	<ul style="list-style-type: none"> - Zone de production de légumes Sénégal - Zone densément peuplée - Salinité des sols et érosion côtière
Vallée du fleuve Sénégal	9 658	<ul style="list-style-type: none"> - Zone caractérisée par des plaines alluviales. Production agricole dérivée de l'irrigation - Haut niveau de fertilité

Sylvo-pastorale	55 561	- Zone d'élevage bovin principalement peuplée d'ethnies peuls nomades
Bassin arachidier	46 367	- Zone fortement peuplée et sujette à la dégradation des écosystèmes et à l'épuisement des ressources foncières (fertilité et ressources en bois) - Régénération des sols ralentie en raison de l'acidification des sols des hautes terres et de la salinité des basses terres
Sénégal oriental	51 958	- Pauvreté rurale endémique en raison de la pression démographique sur les ressources naturelles
Casamance	28 324	- Zone caractérisée par l'acidification des sols des basses terres, l'érosion hydrique, la perte de diversité forestière, l'augmentation de la salinité, de la toxicité ferreuse des sols et la dégradation aiguë des mangroves dans l'estuaire de la Casamance

1.2.2 Régime alimentaire

Les céréales sont la base du régime alimentaire des populations rurales et urbaines. Il s'agit principalement du riz, du mil, du sorgho et du maïs. Le **Tableau 2** représente la consommation des céréales par tête d'habitant par an. De manière générale, la consommation moyenne annuelle atteint 158 kg en zone rurale contre 107,4 kg en zone urbaine [10].

Tableau 2 : Consommation de céréales de base au Sénégal en 2017 [10]

Céréales	Consommation (kg/tête/an)
Riz	78,1
Mil	30,2
Maïs	9,2
Sorgho	0,7

Sur 9,51 millions d'hectares de terres cultivées, 3,85 millions d'hectares sont des cultures céréalières [9]. La culture céréalière augmente en essayant de répondre à la demande locale croissante dans une perspective d'autoconsommation [9] [11]. Néanmoins, la production alimentaire actuelle ne répond pas à la demande nationale. Le pays importe donc régulièrement du riz et du blé en grande quantité [9]. Pour une population totale de 18,3 millions d'habitants dont 49% se trouvent en zone rurale, il est à noter un retard de croissance de 20% de la population en zone rurale contre 9% en zone urbaine. Ce retard est principalement dû à une faible diversification du régime alimentaire, alliée à des aliments de mauvaise qualité [9].

1.2.3 Importance du maïs dans la lutte contre l'insécurité alimentaire

1.2.3.1 Généralités

Le maïs (*Zea mays* L.) est une monocotylédone appartenant à la famille des *Poaceae* [12]. C'est une céréale originaire du Mexique et de l'Amérique centrale qui s'est développée dans le monde entier pour l'alimentation humaine et animale. Elle est maintenant utilisée dans de nombreuses industries. Le maïs compte plus de cent variétés offrant une grande diversité génétique ce qui lui confère d'importantes capacités d'adaptation et favorise sa large diffusion dans le monde [13]

Les conditions idéales pour cultiver le maïs sont une température moyenne de 25°C pour au moins 600 mm de précipitation ce qui permet une phase de développement idéale comme présentée dans la **Figure 3**. Au Sénégal, le maïs est cultivé dans le sud où la pluviométrie est plus élevée qu'ailleurs. Dans cette région, 10 % des cultures sont de grandes exploitations (20 à 50 ha) et 90% appartiennent à des petits producteurs (1 à 2 ha) [9][14]

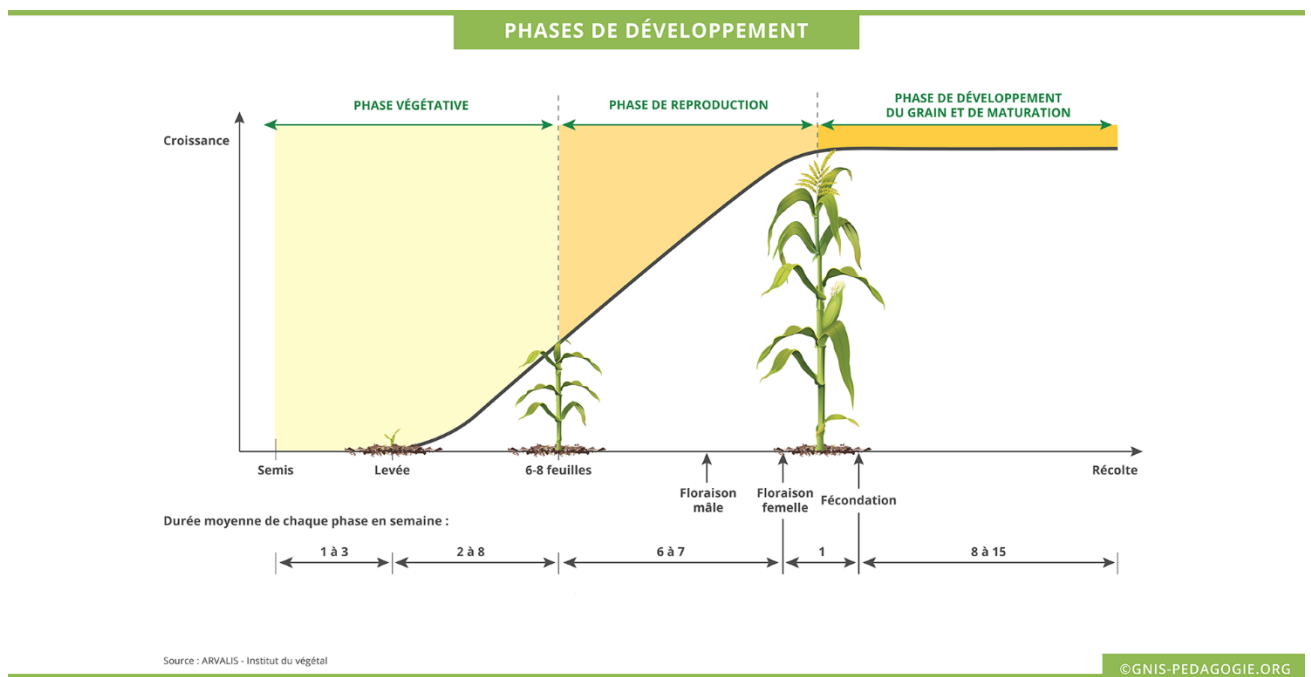


Figure 3 : Cycle de développement du maïs [15]

Du point de vue de sa composition chimique, le grain de maïs est principalement composé d'amidon (72-73%), qui est constitué de deux polymères de glucose : l'amylose et l'amylopectine. Le grain de maïs renferme également des protéines (10%), de la matière grasse (5%), du fer et des vitamines B.

La culture du maïs est un instrument central pour lutter contre l'insécurité alimentaire notamment pour ses valeurs nutritives et ses capacités à être transformé et valorisé en industrie pour produire une grande variété de produits alimentaires.

1.2.3.2 Infestation du grain de maïs

Les méthodes de lutte en cas d'infestation des denrées stockés se divisent en deux parties. L'une avant le stockage l'autre pendant la période de stockage.

Le grain de maïs peut être infesté à différents moments de la chaîne d'approvisionnement. Des mesures préventives peuvent diminuer les risques d'une infestation initiale comme la surveillance et l'utilisation de locaux de stockage adéquats. Néanmoins, en zone rurale, un manque de moyens et d'accès à des locaux de stockages adéquats se fait ressentir. Selon une enquête réalisée dans l'est du Sénégal en 2012, le stockage est caractéristique de l'ethnie et de la zone géographique. Il se compose principalement de six types et deux modes de stockage repris dans le **Tableau 3** [14]. Il est à noter que 80% des grains sont stockés dans des greniers où l'étanchéité n'est pas assurée [16][17].

Tableau 3: Types et mode de stockage du maïs

Types de stockages	Sac
	Claie
	Grenier
	Claie + sac
	Fût
	Magasin
Modes de stockage	Epis
	Grains

1.3 PROBLÉMATIQUE LIÉE AUX INSECTES NUISIBLES DES DENRÉES STOCKÉES

1.3.1 Généralités

Lorsque les conditions d'entreposage sont idéales, il est possible de conserver à long terme les céréales. Cependant, les insectes ravageurs des récoltes détériorent les grains durant la période post-récolte. Ils affectent la valeur nutritive, commerciale et agronomique des stocks entraînant une perte de poids de plus de 40% en six mois d'infestation pendant le stockage [18][19][20]. L'ordre des Lépidoptères et l'ordre des Coléoptères en sont les acteurs majeurs [21]. Il est possible de diviser les ravageurs en deux groupes selon leurs capacités à s'attaquer aux grains. D'une part, les ravageurs primaires s'attaquent aux grains sains et sont capables de perforer l'enveloppe de celui-ci, d'autre part les ravageurs secondaires s'attaquent, quant à eux, aux grains déjà rongés par les ravageurs primaires [21].

Les ravageurs primaires adultes pondent leurs œufs à l'intérieur du grain où les larves occasionnent des pertes de poids du grain en consommant la matrice interne de celui-ci pour leur croissance. Ceux-ci ouvrent la voie aux ravageurs secondaires, aux champignons et aux bactéries dû à l'échauffement et la hausse d'humidité causés par l'infestation des ravageurs. Ils provoquent la détérioration de la qualité du grain et des risques sanitaires pour le consommateur [22]. En effet, les champignons microscopiques ou les moisissures sécrètent des substances toxiques appelées mycotoxines qui amènent des intoxications chroniques ou aiguës chez les animaux et l'homme suite à la consommation des aliments contaminés.

Le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais*), le charançon du riz (*Sitophilus oryzae*) et le charançon des grains (*Sitophilus granaries*) sont parmi les plus importants ravageurs qui causent des pertes importantes en quantité et en qualité des grains [23]. Selon la FAO, l'espèce *Sitophilus zeamais* est l'une des espèces de nuisibles les plus importantes, menaçant les récoltes de céréales dans toutes les zones tropicales humides [24][25].

1.3.2 *Sitophilus zeamais*

1.3.2.1 Généralités

Le charançon du maïs *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) est une espèce de coléoptères faisant partie de la famille des *Curculionidae* (Figure 4). C'est un ravageur primaire qui dégrade les denrées céréalieres stockées telles que le blé, le maïs, le sorgho le riz, le seigle et le tamarin. Pour deux insectes par grains, une moyenne de 18,3% de perte en 2 mois est estimée [26].

S. zeamais est caractérisé par l'existence d'un museau portant à sa base des antennes coudée en massue. Il possède des pièces buccales broyeuses. L'adulte est brun et se distingue des autres charançon par quatre taches jaune rougeâtre sur ses élytres (**Figure 4**). Sa répartition est pantropicale, induisant sa présence dans les régions tropicales des deux hémisphères [27].

ICONOGRAPHIA COLEOPTERORUM POLONIAE
Copyright © by Lech Borowiec



Figure 4: *Sitophilus zeamais*, vue dorsale

1.3.2.2 Cycle de développement

La femelle démarre le cycle de développement en libérant des phéromones afin d'attirer le mâle pour l'accouplement. Grâce à son museau plus long, l'insecte femelle creuse un trou dans le grain et vient y pondre un ou plusieurs œufs pour ensuite reboucher ce trou à l'aide d'une substance mucilagineuse qui durcit à l'air. La croissance de la population d'insecte peut uniquement avoir lieu dans un grain dont l'humidité est supérieure à 9,5%, sous une plage de température allant de 15 à 35°C [28].

Les femelles adultes pondent environ 200 œufs à une vitesse de 20 à 30 par jours [28] Les œufs éclosent après 8 à 11 jours d'incubation pour qu'au final, une seule larve se développe dans chaque grain. Tout au long du développement larvaire (3-4 stades larvaires), les individus sont qualifiés de

cléthropages, car ils se nourrissent des graines et se développent à l'intérieur de ces dernières. Après le développement larvaire à l'intérieur du grain, l'insecte adulte utilise son museau pour percer la paroi et sortir du grain où la maturité sexuelle est directement acquise. Au stade adulte, les individus se contentent de ronger l'extérieur des grains, ils sont granivores [29]. Le cycle de développement complet de l'espèce se prolonge en moyenne de de 26 à 35 jours en zones tropicales [28][30,31]. Son cycle de vie peut s'étendre de 3 à 6 mois [32][33].

1.4 MÉTHODE DE LUTTE ACTUELLE LA PLUS EFFICACE : LA LUTTE CHIMIQUE

La lutte chimique est la méthode la plus rentable et efficace contre les ravageurs des récoltes [28]. Généralement, deux types de traitements sont employés :

- Le traitement par contact où les locaux de stockage, l'emballage et les grains sont recouverts d'une pellicule insecticide. L'insecticide impact l'insecte à travers le contact, l'inhalation et l'ingestion.
- Le traitement par fumigation où le grain est traité par un gaz toxique.

La majorité des insecticides sont des produits chimiques qui affectent le système nerveux et entraînent une agitation excessive, perturbant les fonctions motrices et alimentaires, ainsi que des secousses ou des crises conduisant à l'immobilisation et à la mort de l'insecte [34]. D'autres insecticides agissent sur les fonctions respiratoires et peuvent pénétrer dans la cible par contact, ingestion ou inhalation [34][35]

D'un point de vue législatif, c'est le Comité sahélien des Pesticides (CSP) qui a pour rôle de prendre les décisions concernant la circulation des pesticides pour l'ensemble des pays membres de Comité inter-états de Lutte contre la Sécheresse au Sahel (CILSS) dont fait partie le Sénégal. La liste des pesticides autorisés a été mise à jour en 2017. Sur 438 produits autorisés et répertoriés, un seul concerne les insectes liés au stockage des denrées stockées et son mode d'action est gazeux (**Tableau 4** Erreur ! Source du renvoi introuvable.) [36]

L'utilisation de phosphine obtenue par l'hydrolyse du phosphore d'aluminium est dominante dans les pratiques de stockage des denrées. Cependant, il est fréquent que les doses recommandées ne soient pas respectées [14]. De plus l'utilisation non-raisonnée d'insecticides chimiques mène à des problèmes de santé humaine, des déséquilibres environnementaux et le développement de gènes de résistances chez les insectes [37,38][39]. Les espèces du genre *Sitophilus* sont parmi le plus citées dans la résistance aux pesticides [40]. *S. zeamais* du Maroc a été répertorié comme ayant un fort degré de tolérance à la phosphine. Des études avancent que cette résistance peut être due à la capacité de ces souches à réduire leur taux de respiration [41]

Tableau 4: Liste de matière active autorisée dans les insecticides luttant contre les ravageurs des denrées stockées

Spécialité commerciale	Firme	Matière(s) active(s)	Domaine d'utilisation
Aladin	Savana	Phosphure d'aluminium (560 g/kg)	Insecticides fumigant à usage professionnel pour la protection des denrées stockées

1.5 METHODES ALTERNATIVES

Il est nécessaire de trouver des méthodes alternatives afin de se diriger vers une agriculture durable. L'utilisation d'une combinaison alliant lutte chimique et non chimique en atteignant la cible de manière spécifique s'inscrit dans la description de lutte intégrée. Celle-ci est une approche durable visant à minimiser l'utilisation de pesticides chimiques pour la défense des cultures et des récoltes.

1.5.1 Résistance variétale

Le centre international d'amélioration du maïs et du blé (CIMMYT) compte une collection de 28 000 graines de maïs provenant du monde entier [42] Au Sénégal, pas moins de 97 % de la production implique des variétés améliorées et la plupart sont des variétés à cycle court (90 jours jusqu'à maturité) [9] L'utilisation de différentes variétés de maïs présente un intérêt dans la lutte contre les ravageurs. En effet, des études ont montré que la résistance aux insectes ravageurs du maïs stocké est liée à des caractéristiques physiques, chimiques et biochimiques d'une variété de maïs. Les caractéristiques morphométriques telles que la longueur, la largeur, l'épaisseur et la dureté du grain ont été étudiées pour voir l'impact sur *S. zeamaïs*. La dureté du grain limite la multiplication des populations de *S. zeamaïs* en les empêchant de se reproduire [43].

1.5.2 Lutte physique

La lutte physique consiste à utiliser des méthodes manuelles ou mécaniques pour contrôler les nuisibles. En milieu rural, différentes techniques sont appliquées [44].

- L'insolation : avant d'emmagasiner les récoltes, les grains de maïs sont exposés au soleil ce qui permet d'achever le séchage et de faire fuir les insectes grâce à la chaleur et aux rayons de soleil directs.
- Le stockage hermétique : en milieu rural, l'utilisation de bidons en plastique ou d'anciens fûts d'huile permet une meilleure étanchéité et de limiter l'infestation des ravageurs.
- L'enfumage : les épis de maïs peuvent également être suspendus au-dessus du foyer, la chaleur et la fumée repoussent les ravageurs.
- Substances inertes : il existe quatre types de poudre inertes à savoir la terre, la terre diatomée, les gels siliceux et les poudres inertes non siliceuses[45]. Les cendres et le sable fin sont traditionnellement utilisées dans la conservation des récoltes.

1.5.2.1 Caractéristiques des terres diatomées

D'après l'ouvrage intitulé « Diatom Nanotechnology: Progress and Emerging Applications (2018) » Losic D et Korunic Z regroupent les études concernant les terres diatomées en tant qu'insecticide[46]. Pour comprendre comment cibler les recherches visant à la formulation de nouveaux insecticides naturels, il est important de comprendre le fonctionnement d'une terre diatomée et ses limitations. Différents modes d'actions mécaniques de la terre diatomée ont pu être démontrés à savoir :

- Absorption des lipides cuticulaires. L'effet abrasif se traduit par un endommagement de la couche cuticulaire de l'insecte. Cette couche permet de protéger les tissus internes de l'insecte

contre l'environnement extérieur. En l'endommageant, l'eau s'échappe des tissus de l'insecte ce qui entraîne une dessiccation et finalement la mort de l'insecte [47]

- Déchirement des organes internes lors d'une ingestion [48]
- Obstruction des spiracles [48]
- Interférence dans les hormones provoquant un dérèglement [48]

Plus la granulométrie de la poudre sera petite, meilleure sera son efficacité. L'utilisation de montmorillonite ayant une granulométrie qui s'établit autour de 2 µm montre une activité insecticide [49] Cependant, les travailleurs exposés à des poussières en suspension peuvent éprouver des irritations légères des yeux, des poumons et de la peau donc un équipement adéquat, notamment des masques respiratoires est recommandé [46]. Au niveau de la toxicité les terres diatomées sont considérées comme non-toxiques pour les mammifères et ne présentent aucun effet environnemental sur les plantes et les poissons.

La morphologie ainsi que le stade de développement de l'insecte sont également des paramètres à prendre en considération. Les larves ainsi que les insectes ayant une épicuticule et une couche de cire mince sont plus sensibles. Les insectes ayant une surface corporelle rugueuse ou poilue collectent plus de particules par unité de surface et seront plus endommagés. L'efficacité des poudres dépend donc de l'espèce visée. Une bonne activité a été démontrée envers les insectes du genre *Cryptolestes*. Les genres *Sitophilus*, *Oryzaephilus*, *Rhyzopertha* et *Tribolium* sont respectivement plus tolérants [46].

La plus grande limitation de l'utilisation des terres diatomées en tant que bioinsecticide réside dans la dose à fournir pour obtenir une mortalité conséquente. En effet pour que la mortalité soit totale, la dose recommandée est de l'ordre de 0,5 à 1 kg.t⁻¹ de grain. Cependant les poudres affectent les propriétés physiques de la masse du grain. C'est pourquoi, bien que la recherche ait amélioré l'efficacité des terres diatomées en diminuant les doses nécessaires, une très petite quantité de céréales dans le monde sont saupoudrées de terres diatomées. Dans la plupart des pays, la réglementation générale interdit ou limite l'ajout de toute poussière aux grains destinés à l'exportation vers d'autres pays. De plus, les grains sont classés selon leur qualité sur la base de la densité apparente. Tant que ces réglementations ne seront pas modifiées, l'avenir mondial de l'application directe de terres diatomées sur grains reste limité [46]. La deuxième solution, fait actuellement l'objet d'études, est l'amélioration de l'efficacité des formulations existantes en la formulant avec d'autres insecticides naturels afin d'améliorer son efficacité à moindre dose [46]

1.5.3 Lutte biologique

La lutte biologique est une méthode qui consiste à utiliser des organismes vivants ou des substances naturellement produites pour lutter contre les organismes nuisibles. Les agents biologiques peuvent être des prédateurs naturels, des parasites, des virus, des bactéries ou des champignons qui agissent pour réduire la population de nuisibles sans impacter la santé humaine et l'environnement [50].

L'utilisation de plantes à effet insecticide s'inscrit dans la lutte biologique. Ces plantes sont connues pour produire des métabolites essentiels dans la lutte contre les différents ravageurs [51]. Les plantes fraîches ou séchées sont utilisées traditionnellement dans les greniers contre la lutte des ravageurs. Ces dernières, les poudres de plantes, l'huile essentielle et les métabolites secondaires purs dérivés des plantes possèdent les avantages :

- D'être sélectifs contre l'individu cible [52]
- De ne pas persister dans l'environnement à cause de leur volatilité [53][54]

- De posséder différents mécanismes d'actions ce qui empêche le développement de résistance chez l'organisme cible [52]
- De présenter une faible toxicité pour les mammifères [55]

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées [34]. Comme synthétisé dans la review de Sylvia A *et al* (2022) des expériences *in vivo* et *in vitro* ont permis d'identifier des composés insecticides importants tels que des alcaloïdes, des terpénoïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes et des quinones produits par les plantes [56]

1.6 UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES COMME MÉTHODE DE LUTTE ALTERNATIVE

1.6.1 Définition

Selon la norme AFNOR NF T75-006, l'huile essentielle est définie comme étant « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Une huile essentielle est un mélange de composés volatils hydrophobes synthétisés par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Ces derniers sont des composés qui ne participent pas à la croissance de la plante, mais qui sont impliqués dans des mécanismes de défense et d'attraction.

La famille la plus représentée au sein des métabolites secondaires est celle des terpènes et des terpénoïdes (terpènes fonctionnalisés) dont la structure est basée sur une unité isoprène. Les terpènes sont des molécules ayant un bas poids moléculaire et une haute volatilité. Certains terpènes à bas poids moléculaire possèdent une odeur caractéristique. En fonction du nombre d'unités reliées les unes aux autres, on distingue les monoterpènes (2 unités isopréniques), les sesquiterpènes (3 unités isopréniques), les diterpènes (4 unités), triterpènes (6 unités) et polyterpènes (à partir de 8 unités) [57]. Le second groupe est constitué de molécules aromatiques et aliphatiques à bas poids moléculaire [58].

Les organes sécréteurs d'huiles essentielles se rencontrent dans différents organes de la plante, à savoir les fruits, les feuilles, les graines, les racines et la sommité fleurie [59].

1.6.2 Chémotype et facteurs de variation

La notion de chémotype est définie comme « un groupe chimiquement défini au sein d'une population d'individus morphologiquement indiscernables » [60]. Cela implique que même si des individus appartiennent à la même espèce botanique et partagent donc le même génome et le même phénotype, ils peuvent tout de même présenter des variations dans leur composition chimique. Cela dépend des facteurs environnementaux comme la température, la pluviométrie, la luminosité, l'altitude, le sol, la disponibilité en nutriment, l'âge de la plante et la méthode de séchage [61][62]. En général, une huile essentielle est composée entre une et quatre molécules majoritaires et de composés minoritaires. Ces derniers peuvent influencer les composés majoritaires par des effets synergiques et antagonistes [58][59].

De plus, les huiles essentielles sont liquides, liposolubles et volatiles à température ambiante. Elles peuvent être altérées par la lumière, l'air, l'oxygène et l'humidité. Ces dégradations infligent un

changement de structure et peuvent entraîner une modification de la composition de l'huile essentielle et donc peuvent conduire à un changement des propriétés lié à celle-ci [58].

1.6.3 Huile essentielle en tant que bio insecticide

L'effet insecticide des huiles essentielles (HE) est principalement attribué aux monoterpènes [63]. Les huiles essentielles agissent et atteignent la cible de différentes manières. Les deux moyens d'application sont la fumigation et le contact [64]. Elles agissent sur des fonctions de l'insecte comme la dissuasion alimentaire et la diminution de la reproduction. Elles peuvent également avoir un effet physiologique sur l'insecte comme l'inhibition de l'activité des ATPases [65]. Ces différentes cibles justifient l'intérêt de leur utilisation en tant qu'insecticide, car cela rend difficile l'acquisition de gènes de résistance pour l'insecte.

En 15 ans, 196 huiles essentielles venant de 31 plantes différentes ont été étudiées pour leur capacité insecticide contre trois des principaux ravageurs des récoltes à savoir : *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius* et *Sitophilus zeamais*. La **Figure 5** montre la répartition de la quantité d'études se référant à chaque famille étudiée pour les trois espèces du genre *Sitophilus*. Il est à noter que 115 huiles essentielles ont été étudiées pour *Sitophilus zeamais*, 58 pour *Sitophilus oryzae* et 23 pour *Sitophilus granarius*. La large quantité d'étude pour *S. zeamais* souligne que cette espèce est la plus répandue et la plus redoutée [56].

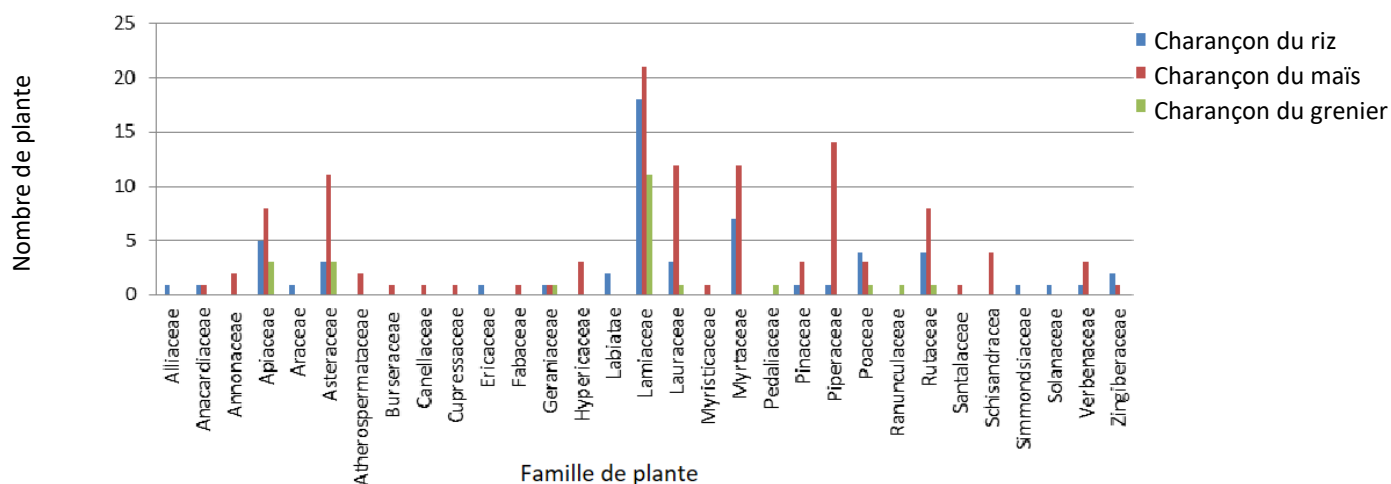


Figure 5: Distribution des études qui ciblent l'activité de plantes étudiées par famille visant les trois ravageurs des récoltes principaux à savoir, *Sitophilus oryzae* (charançon du riz), *Sitophilus granarius* (charançon du grenier) et *Sitophilus zeamais* (charançon du maïs).

La sensibilité des espèces pour une même huile essentielle est totalement différente [66]. Une même molécule n'exerce pas spécialement la même activité à différents stades biologiques d'un insecte [67].

1.6.3.1 Réglementation

Les huiles essentielles peuvent contenir des molécules neurotoxiques importantes contre les poissons et des organismes non-ciblés. Le Règlement (CE) n°1272/2008 de l'Union européenne indique la

toxicité de certaines huiles essentielles. La présence de mention sur l'étiquette permet d'entrer dans une catégorie réglementée précise et a pour but d'informer le consommateur.

Le Règlement (CE) 528/2012 concerne la mise sur le marché des produits et substances biocides. Ces substances ne peuvent entrer sur le marché que si la substance active qu'elles contiennent est autorisée à usage biocide avec un dépôt d'une déclaration toxicovigilance [68].

1.6.3.2 *Lippia alba*

1.6.3.2.1 Généralités

La mélisse de calme ou verveine blanche, de son nom latin *Lippia alba* (Mill. N.E. Brown, 1925), est une espèce de plantes à fleurs appartenant à la famille des *Verbenaceae*. Elle est abondamment présente entre le sud des États-Unis et le nord de l'Argentine. Elle est également présente en Inde, en Australie et en Afrique de l'Ouest [69]. Elle est utilisée pour ses capacités médicinales contre les troubles gastro-intestinaux et respiratoires ainsi qu'en cuisine. De plus, l'espèce présente des propriétés anti-inflammatoires, sédatives et anti-malariques [70] [71].

Les principes actifs de la plante se retrouvent principalement dans son huile essentielle. Ses feuilles sont riches en huiles essentielles et sont utilisées dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques pour leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes [72]. Des études ont également démontré son pouvoir insecticide contre *Sitophilus Zeamais*[73][74][75].

L. alba est composé principalement de monoterpène, mais sa composition change selon ses conditions de culture. Il est possible de la classer selon différents chémotypes en fonction de ses composants majoritaires.

1.6.3.2.2 Description de la plante

Les *Verbenaceae* constituent une famille d'herbes, d'arbustes, de plantes herbacées souvent aromatisées. *L. alba* est un arbrisseau qui atteint une hauteur de 1 à 2 m. (**Figure 66 et Figure 7**). Son odeur s'apparente à la citronnelle. Les feuilles sont opposées et verticillées, mesurant 1 à 3 cm de longueur pour 0,9 à 2 cm de large et présentent des formes variables avec un sommet pointu, une base cunéiforme avec une bordure dentelée ou crénelée. Elles sont membraneuses, pétiolées, pubescentes, opposées ou alternes. Les fleurs zygomorphes, dont le calice fait de 1,5-1,7mm de long sont groupées en épis mesurant 2 cm et portent une corolle de couleur blanche ou rose. Le fruit est composé de deux noyaux indéhiscent contenant chacun une graine brune [76]. La composition chimique de l'huile essentielle varie avec son chémotype et sera discuté dans la section 4.1.



Figure 6: *L. alba*



Figure 7: *L. alba* vue globale

1.6.4 Relargage contrôlé de l'huile essentielle

La préservation des substances actives d'une huile essentielle est importante pour une application sur la durée. Elle requiert des systèmes qui encapsulent et qui régulent leurs relargages contrôlés dans le temps. L'encapsulation des huiles essentielles ou de leurs composés actifs, font l'objet de plusieurs recherches ces dernières années. Les matrices qui permettent un relargage sont utilisées à travers différentes techniques pour créer l'encapsulation d'une huile essentielle par l'intermédiaire d'interactions chimiques et physiques [77]. Elles peuvent être classées selon 4 types :

- L'huile essentielle est dispersée dans une matrice (exemple : alginate, chitosan, cyclodextrin)
- Les capsules entourées d'une membrane avec comme noyau l'huile essentielle
- Les complexes où les HE sont stabilisés dans des cavités par des interactions chimiques
- Les gouttelettes créées par une simple émulsion dans des tensioactifs

Les types d'encapsulation sont choisis selon le profil de relargage désirée selon l'application. L'alginate, le chitosan et la cyclodextrine figurent parmi les matrices les plus citées dans diverses applications [77] [78].

Rodriguez et al. (2016), ont rédigé une revue reprenant les actuelles stratégies d'encapsulation des molécules bioactives des huiles essentielles [78]. Il a été démontré que les biopolymères utilisés à des fins d'encapsulation en hybridation avec des minéraux argileux permettent un relargage plus lent dans le temps et une stabilité chimique par rapport à l'utilisation de biopolymères seuls [79]. Une récente étude a permis de mettre en lumière l'utilisation de dendrimère pour le relargage contrôlé dans le temps. Des essais sur des graines d'adventices ont démontré une activité antigerminative à faible mesure grâce à l'encapsulation de l'huile essentielle [80].

Dans cette présente étude, le relargage lent des molécules actives va être testé à travers l'utilisation d'argile locale sans modification afin de tester une technique accessible à tous. C'est via l'adsorption

des molécules actives par l'argile que le relargage dans le temps va être testé. L'adsorption est un phénomène physico-chimique de surface se traduisant par une modification de concentration à l'interface de deux phases [81].

L'argile est un minéral naturel trouvé en abondance dans la nature. Il se forme par l'érosion et la décomposition des roches contenant des minéraux argileux. Il fait partie des phyllosilicates qui sont des minéraux contenant de la silice et de l'oxygène ainsi que d'autres éléments tels que l'aluminium, le magnésium ou le fer. Les phyllosilicates sont légers et leur surface spécifique est importante ce qui leur permet d'interagir facilement avec leur environnement. Les études portant sur l'adsorption d'huile essentielle sont testées en agriculture dans le cadre de formulation insecticide à base d'argile de type montmorillonite, kaoline et bentonine. Les argiles modifiées sont testées et utilisées dans la formulation de pesticides [81].

De plus, les études menées par Miz *et al.*, (2014) ont montré que la quantité des composés terpéniques absorbée dépend non seulement de l'abondance de chaque composé dans l'huile essentielle, mais également de la fraction granulométrique des particules. Plus les particules sont fines, plus la quantité absorbée sera grande [81].

Des expériences ont quantifié la capacité des argiles de type montmorillonite et kaolinite à relarguer des composés terpéniques adsorbés à différentes températures. Les résultats obtenus révèlent que même s'ils sont bien fixés sur un adsorbant, tous les composés terpéniques étudiés sont capables de se volatiliser à 20°C. La quantité de composés relarguée varie selon la nature du composé terpénique, l'adsorbant et la température [82].

2. OBJECTIFS

Le présent travail vise à formuler un bio-insecticide à base d'huile essentielle de *Lippia alba* et d'argile locale contre *Sitophilus zeamais*.

Pour cela, l'effet toxique par fumigation et par contact sera évalué à travers une cinétique de mortalité. L'effet répulsif de l'huile essentielle sera également testé. Ce premier objectif sera de connaître le moyen d'application de l'huile essentielle le plus optimal.

Le second objectif sera de tester les capacités insecticides de la formulation d'une poudre d'argile et d'huile essentielle. Tout d'abord, l'activité insecticide à travers le contact d'argiles seules sera testée. La cuticule des insectes sera ensuite observée au binoculaire. L'objectif de cette manipulation sera de savoir si l'argile possède une activité insecticide seule. L'étape suivante consistera à évaluer la rémanence de l'huile essentielle adsorbé sur les différentes argiles après un certain temps (96h). L'objectif sera d'établir une cinétique qualitative de relargage des terpènes en utilisant un système de collecte des composés organiques volatils suivie d'une analyse à la GC-MS. Pour terminer, la capacité d'adsorption des différentes argiles sera évaluée à travers une cinétique d'extraction du limonène. L'objectif de cette manipulation est de mesurer le pouvoir adsorbant de l'argile en quantifiant le limonène restant sur l'argile.

3. MATÉRIEL ET MÉTHODE

3.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL : *LIPPIA ALBA*

L. alba a été plantée à la ferme du lac rose au Sénégal, dans la commune de Niague-Tivaoune Peulh dans la région de Dakar. Elle a été récoltée déjà fleurie le 07 novembre et séchée jusqu'au 17 novembre 2022 dans une cabane servant au stockage. L'extraction de l'huile essentielle de *L. alba* a été réalisée via une distillation par entraînement à la vapeur à l'aide d'un distillateur SUPERFUSTINOX Modello Milano-Inox 18/10 [83] de capacité de 30 L (**Figure 8**). L'huile essentielle est ensuite récupérée par décantation (**Figure 9**). Elle est conservée depuis lors à une température ambiante de +/- 25°C et à l'abri de la lumière dans un flacon en verre opaque afin d'éviter la dégradation des composés. Lors du retour en Belgique, l'huile essentielle est conservée au frigo à une température de 4°C dans un flacon opaque.



Figure 8: Dispositif d'extraction à la vapeur



Figure 9: Récupération de l'huile essentielle par décantation

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle est calculé de la façon suivante :

$$\eta = \frac{m_{HE}}{m_{mf} * (100 - \tau_{humidité})}$$

Avec m_{HE} qui correspond à la masse d'huile essentielle extraite, m_{mf} la masse de matière fraîche utilisée et $\tau_{humidité}$ la teneur en eau présente dans la matière fraîche mesurée en triplicat.

3.2 MATÉRIEL ANIMAL : *SITOPHILUS ZEAMAÏS*

Les insectes utilisés dans les expériences ont été standardisés. Les insectes utilisés sont des jeunes *S. zeamaïs* âgés de 3 à 4 semaines.

L'élevage de *S. zeamaïs* a été standardisé. Pour la standardisation de l'élevage, le maïs infesté préalablement a été tamisé afin de récupérer des individus sexuellement matures. Ceux-ci ont été prélevés et mis dans des bocaux en verre de 500 mL dans un milieu composé de maïs trié et stérilisé par le froid. La croissance des individus s'est réalisée dans armoire maintenue à $28,9 \pm 2$ °C avec $37,8 \pm 9,43$ % HR et dans une obscurité constante. Pour les expériences, les individus ont été synchronisés selon leur stade de développement et les adultes de 3 à 4 semaines ont été sélectionnés pour l'ensemble des manipulations.

3.3 PRÉPARATION DU MAÏS

Le maïs provient d'une culture locale située à Saloum et récolée en mars 2022. Il a ensuite été trié en août 2022 afin de retirer les grains cassés, incomplets ou fendus. Le maïs est ensuite conservé au congélateur à -7°C afin d'éliminer les résidus d'insecticides et les potentielles contaminations. Il est systématiquement passé à l'étuve pendant 15 minutes à 40°C avant son utilisation.

3.4 EXPÉRIMENTATIONS

3.4.1 Remarques préliminaires

Les expérimentations décrites ci-dessous ont été réalisées sur *S. zeamaïs* sur la période s'étendant de 1er décembre au 27 janvier à l'institut de technologie alimentaire à Dakar. Les conditions de température se sont situées en permanence entre 27 et 35°C pour un taux moyen d'humidité de 38,67%. Des tests préliminaires ont été faits préalablement avant chaque expérimentation pour pouvoir cibler la gamme optimale à tester. Cinq répétitions sont ensuite réalisées.

Lors du dénombrement de la mortalité, les insectes sont considérés comme morts s'ils ne répondent à aucune stimulation physique, c'est-à-dire, aucun mouvement des pattes ou des antennes. L'étuve universelle utilisée dans le cadre des expérimentations est une étuve de séchage universelle de la marque Memmert. La balance utilisée de la marque RADWAG possède une précision de lecture de 0,01g et une capacité maximum de 6100g.

3.4.2 Test du potentiel insecticide de l'huile essentielle de *L. alba*

Afin de déterminer l'effet insecticide potentiel de l'huile essentielle de *L. alba* contre l'espèce *Sitophilus zeamaïs*, il est primordial de tester la bioactivité de l'huile essentielle. La toxicité à travers la fumigation, le contact est testé. L'effet répulsif de l'huile essentielle est également testé. Pour cela, des tests à l'échelle du laboratoire ont été menés. La dose la plus toxique sera la dose minimale à appliquer pour obtenir 100% de mortalité dans le cas de la fumigation et du contact.

3.4.3 Effet toxique induit par *Lippia alba*

Tout d'abord, 20g de grains de maïs sont pesés puis introduits dans un bocal en verre d'une capacité de 380 mL. Ensuite, dix insectes non sexés d'une même génération sont introduits dans chaque bocal. Cinq répétitions sont réalisées pour chaque bocal. Un témoin négatif ne contenant aucune substance active est réalisé dans les mêmes conditions pour chaque cas.

3.4.3.1 Fumigation

D'après un protocole adapté de Shukla R et al. (2011), une quantité de 38, 57, 76, 95 μL d'HE de *L. alba* est placée sur du papier adsorbant, situé à l'intérieur du gobelet à l'aide d'une micropipette. (Figure 100 et Figure 111). Le gobelet contenant la solution d'huile essentielle est ensuite scellé et collé sur le couvercle pour former le dispositif expérimental. Le pourcentage de mortalité est relevé à 24, 48, 72, 96h après le traitement. [84]:

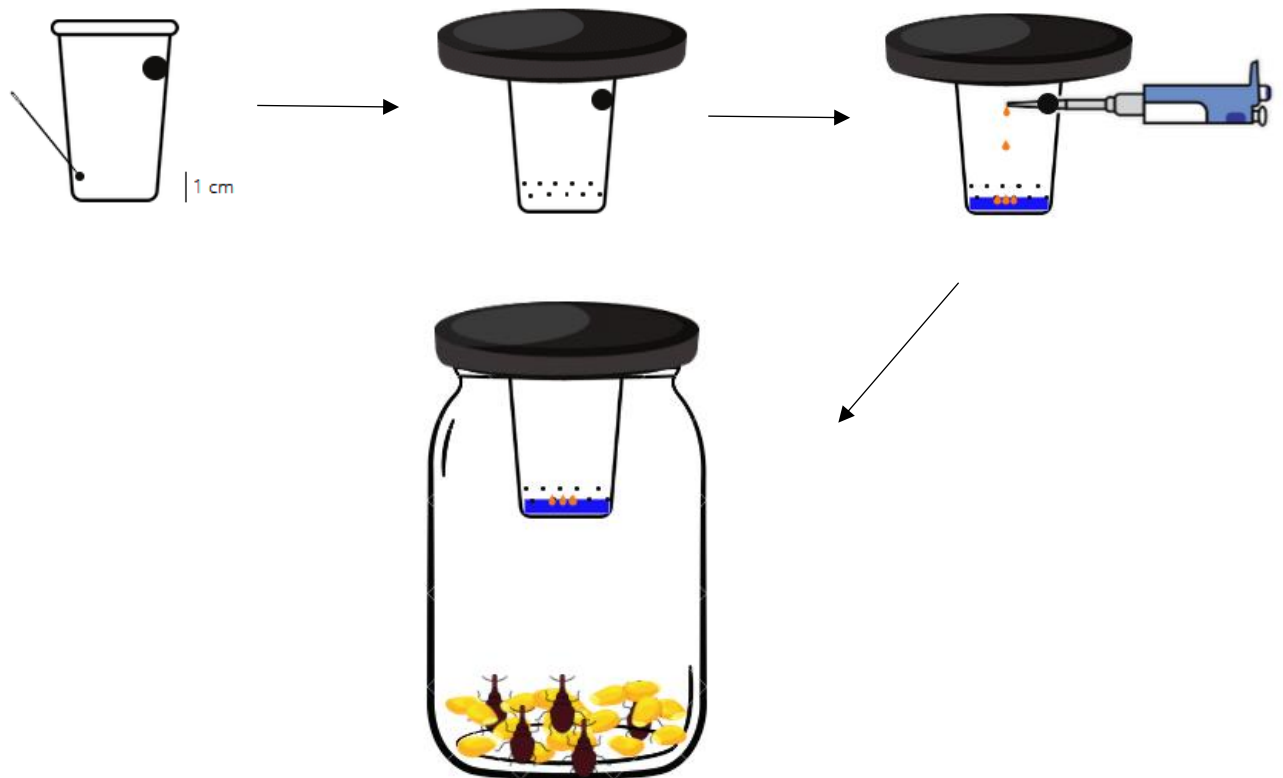


Figure 10: Étapes de préparation du dispositif de fumigation



Figure 11: Dispositif de fumigation

3.4.4 Contact

À partir du protocole adapté de Kéita et al. (2001) un volume de 4,8,12,16 et 20 μL d'huile essentielle *L. alba* par mL d'acétone est déposé à la micropipette directement sur le maïs contenu dans le bocal. Les insectes sont ensuite insérés 30 min après le dépôt de l'huile essentielle pour éviter une surmortalité due au solvant. Le pourcentage de mortalité est relevé à 24, 48, 72, 96h après le traitement[85].

Le taux de mortalité (%) est calculé de la manière suivante :

$$M = \frac{\text{Nombre d'insectes morts}}{\text{Nombre total d'insectes}} * 100$$

La formule d'Abbott [86] permet d'obtenir la mortalité en tenant compte de la mortalité naturelle des échantillons témoins :

$$M_{\text{corrigé}} = \frac{M - M_{\text{témoin}}}{100 - M_{\text{témoin}}} * 100$$

3.4.5 Capacité répulsive de *Lippia alba*

Selon le protocole adapté de Peixoto. et al (2015) dans un premier temps, un filtre joseph (VWR 413, particule rétention 5-13 μm) de 90 mm de diamètre est coupé en deux moitiés égales, elles-mêmes rattachées l'une à l'autre par du papier collant. Cet assemblage est ensuite déposé dans une boîte de Pétri. Le but est d'obtenir un support en papier capable d'absorber les solutions testées sur un seul de ses hémisphères, sans que l'autre ne soit contaminé par la migration du liquide. [87]

Ensuite, 4,6,8 μL d'huile essentielle sont déposés sur l'hémisphère gauche du papier filtre appelé "A". L'hémisphère droit appelé "B" de la boîte de pétri est maintenu vierge de toutes substances (**Figure 12**). Un témoin ne recevant pas d'huile essentielle ni sur la partie A, ni sur la partie B est également réalisé. Les insectes au nombre de 10 sont déposés sur la bande centrale de papier collant reliant les deux hémisphères de filtre en cellulose. La boîte de Pétri est directement refermée.

Enfin, le dénombrement des insectes présents dans l'hémisphère gauche est compté après 15, 30, 45 et 60 minutes.

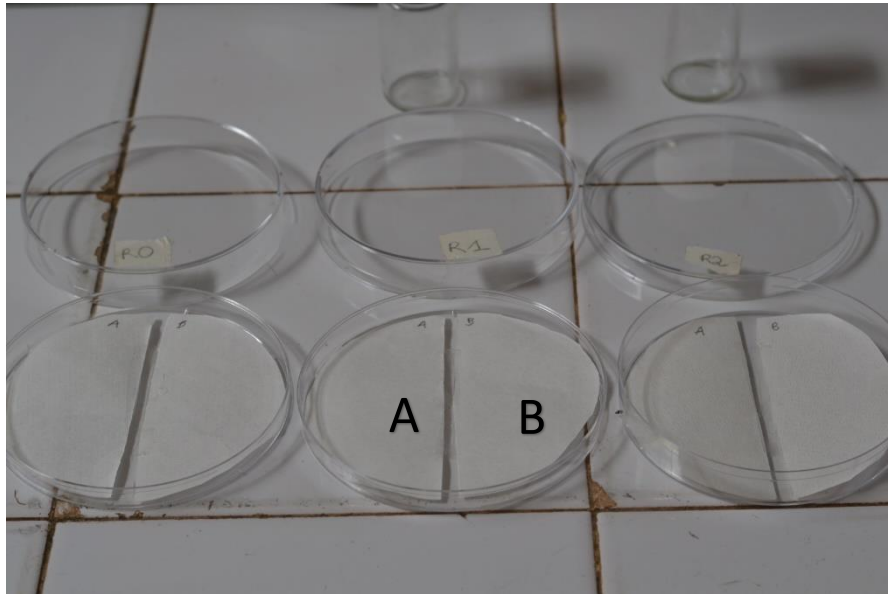


Figure 12: Dispositif de répulsion avec « A » l'hémisphère traité et « B » l'hémisphère sans substance

Le taux de répulsion (%) est calculé de la façon suivante :

$$R = \frac{N_B - N_A}{N_B + N_A} * 100$$

N_A correspond au nombre d'insectes présents à l'instant t considéré sur l'hémisphère traité et N_B au nombre d'insectes présents sur l'hémisphère témoin.

3.4.6 Test du potentiel insecticide de Lippia alba avec de l'argile locale

Pour ce faire, deux argiles ont été récoltées, broyées et filtrées dans un tamis 400 μm . Elles seront appelées argile 1 et argile 2 dans la suite de ce travail. Ces argiles se différencient par le taux de silice présent naturellement dans leur composition. La composition des différentes argiles a été analysée par diffraction au rayon X lors d'une précédente étude et est reprise dans la section 1 en Annexe. L'argile 1 et l'argile 2 contiennent un taux de SiO_2 de respectivement 17% et 41%. La montmorillonite K10 (Sigma-Aldrich, aire de surface : 220-270 m^2/g) est également utilisée lors de cette manipulation en tant que témoin positif.

3.4.6.1 *Argile seule*

Pour ce faire, 1 g de poudre d'argile est placé dans un bocal en verre à capacité 380 mL contenant 20 g de maïs. Le tout est homogénéisé manuellement. Dix insectes non sexés sont ensuite placés dans chaque bocal. Un relevé manuel du taux de mortalité à l'aide d'un tamis 400 μm est réalisé toutes les 24h jusque 120h.

3.4.6.2 *Formulation huile essentielle et argile*

Tout d'abord, 1 g d'argile est pesé puis placé dans un bocal de capacité 380 mL. S'ajoute à l'argile, 20 μL d'huile essentielle à l'aide d'une micropipette. Le tout est homogénéisé manuellement pendant 1 min. Ensuite, 20 g de maïs sont pesés et placés dans le bocal. Pour finir, 10 insectes d'une même génération y sont introduits. Un relevé manuel du taux de mortalité à l'aide d'un tamis 400 μm est réalisé toutes les 24h jusque 120h.

3.4.6.3 *Granulométrie des argiles*

La méthode par tamisage est utilisée. Elle consiste à tamiser la poudre à travers une série de tamis de taille différente pour déterminer la distribution des tailles des particules. Des tamis allant de 500 à 25 microns sont utilisés dans le cadre de cette étude. Les particules qui passent à travers chaque tamis sont collectées et pesées.

3.4.6.4 *Évaluation du relargage de l'huile essentielle par l'argile*

L'objectif de ce dispositif est de déterminer si les différentes argiles peuvent induire un relargage contrôlé et lent des molécules d'intérêts dans le temps sans mesurer l'aspect quantitatif du relargage. Pour ce faire, 5g d'argiles sont mélangés à 100 μL d'huile essentielle. Ensuite 1g de formulation est déposé dans le dispositif en tête d'éléphant (**Figure 13**). Le système de collecte des molécules volatiles a été adapté à partir d'un dispositif de Stephanie Heuskin[88]. Afin de mesurer la rémanence des molécules d'intérêts sur les argiles des prises de mesures sont réalisées toutes les 24h durant 30 min pendant 96h. Un témoin positif ne contenant que 20 μL d'huile essentielle pure est réalisé ainsi un témoin négatif juste avec de l'argile. De plus, pour éviter la perte d'information à cause d'une percée de la cartouche (saturation), une cartouche de garde est mise en série après la première cartouche.

Le dispositif est constitué de trois flacons en verre de 500 mL contenant les différents produits d'adsorption (Figure 13). Chaque flacon est connecté à une pompe d'échantillonnage d'air GilAir Plus programmée pour pomper l'air à un débit de 0,5 L.min⁻¹ et est déposé dans un bain marie maintenu à 30°C. Pour purifier l'air, une cartouche de filtre à charbon actif est insérée à la sortie du flacon. Les composés volatils libérés par les différentes formulations sont retenus par une cartouche Tenax adsorbante. Un test est réalisé avec le même dispositif, mais en utilisant deux cartouches Tenax mises l'une à la suite de l'autre pour s'assurer qu'il n'y ait pas de percée de la cartouche. Les tests sont réalisés en triplicat. Les cartouches sont ensuite analysées en GC-MS en utilisant le Thermal Desorption Unit (TDU).

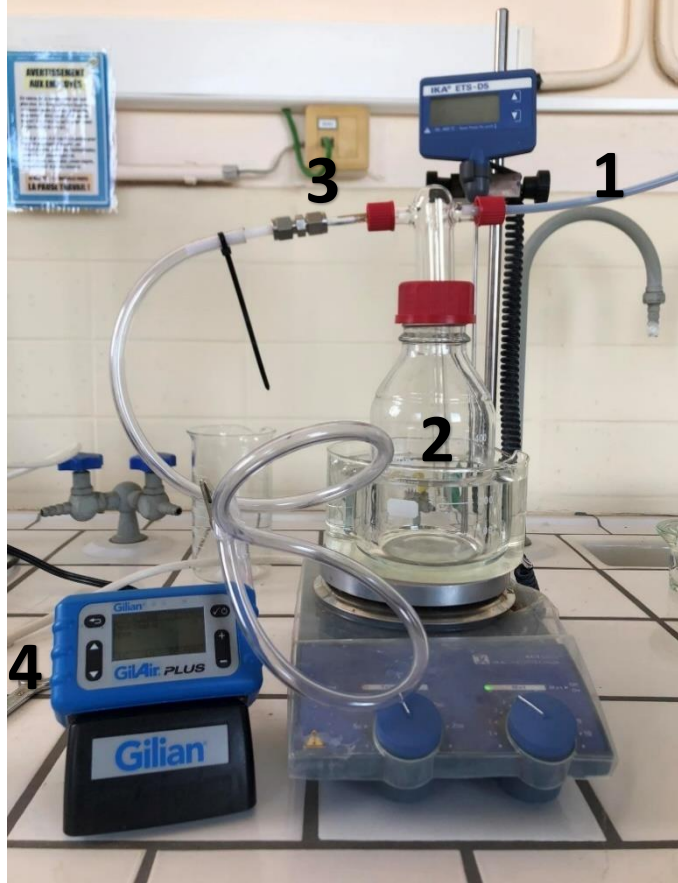


Figure 13: Dispositif du système de collection de composés volatils; 1: filtre à charbon actif; 2: dispositif en tête d'éléphant contenant l'échantillon à analyser, 3: cartouche d'adsorption/désorption, 4: Pompe GilAir plus

3.4.6.5 Pouvoir adsorbant de l'argile

Un mL de solution de limonène à une concentration de $2\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ d'acétone est placé sur 0,5 g des différentes argiles. Le dispositif est ensuite homogénéisé manuellement et laissé à l'air libre. Une extraction en utilisant 10 mL d'hexane est ensuite réalisée au bout de 0h, 1h, 2h, 3h, 6h, 12h, et 24h. Le liquide est filtré et 1 mL est placé dans un vial pour être ensuite analysé à la GC-MS. Les tests sont réalisés en triplicat. Une droite de calibration est également réalisée en utilisant une dilution de 1/500, 1/1000, 1/50000 et 1/10 000.

3.4.7 Analyses instrumentales

3.4.7.1 Chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)

La cartouche a été désorbée par une unité de désorption (GERSTEL TDU). La température initiale est de 40°C avec une augmentation de $200^{\circ}\text{C}/\text{min}$ jusqu'à 280°C pendant 5 min. Le GERSTEL CIS a une température initiale de -10°C et augmente à $12^{\circ}\text{C}/\text{s}$ jusque 280°C pendant 5 min.

Pour l'analyse de la solution liquide contenant du limonène, 1 μL de solution est prélevé et injecté en mode « splitless ».

Le four de la chromatographie en phase gazeuse (Agilent 7890B) est réglé à une température initiale de 35°C pendant 2 min puis augmente de 5°C par minute jusqu'à 300°C pendant 2 min. La séparation est réalisée sur une colonne Agilent 19091S-433 HP-5MS (longueur 30m, diamètre interne de 0,25mm, épaisseur du film de $0,25\mu\text{m}$) et avec de l'hélium comme gaz vecteur à un débit constant de 1mL/min.

Le spectromètre de masse (Agilent 5977B MSD) analyse les échantillons en mode SCAN (50-500 m/z) avec une ionisation de 70 eV.

3.4.7.2 Identification de l'huile essentielle de *Lippia alba*

Le logiciel Masshunter couplé au GC-MS donne des indices de rétention et des pics chromatographiques qu'il est possible d'identifier à l'aide de la base de données NIST17.L L'indice de rétention mesuré sont ensuite comparés à l'indice de rétention de la littérature obtenu avec le même type de colonne.

3.4.7.3 Analyses statistiques

Les résultats ont été traités avec le logiciel GraphPad Prism 8.0.1. en appliquant la distribution de student qui est une méthode utilisée pour évaluer si la différence entre les moyennes de deux échantillons est statistiquement significative. Le seuil de signification est de 0,05. Les graphes ont également été réalisés avec ce logiciel.

3.4.7.4 Analyses des insectes

Toutes les analyses et les photos des insectes traités au point 4.3.1 ont été réalisées au binoculaire de la marque Euromex.

4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.1 COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *LIPPIA ALBA*

Le rendement d'extraction d'huile essentielle de *L. alba* extrait par hydrodistillation est de $1,06 \pm 0,120\%$ pour 240 min d'extraction (m/m) (voir section 2 en Annexe). L'huile essentielle possède une couleur jaune et une odeur forte. Dans une revue consacrée à l'analyse de sa composition présentée par Hennebel *et al* (2006), son rendement d'extraction oscille entre 0,2 et 2,2% et atteint son apogée lors d'extractions sur des plantes non-fleurées. Dans cette présente étude, *L. alba* a été récoltée en fleur donc une optimisation du rendement pourrait être obtenue avec une extraction sur la plante avant sa floraison [89].

Concernant sa composition, l'analyse à la GC-MS révèle la présence de 9 composés majoritaires (**Tableau 5**) dont 89,3% sont des monoterpènes et 8,43% sont des sesquiterpènes. L'identité des molécules possédant plusieurs identifications probables selon les bases de données spectrales, est vérifiée à travers l'indice de rétention théorique de la littérature obtenu avec en appliquant la même méthode sur la même colonne. Les composés majoritaires de l'HE de *L. alba* sont respectivement le limonène (37,5%) le géranial (22,4%) et le néral (17,5%).

Tableau 5: Composition chimique de *L. alba* récoltée en octobre 2022, analysée à la GC-MS et vérification des RI avec la littérature scientifique

Temps de rétention	Nom du composé	Aire relative (%)	RI du composé	RI théorique	Référence du RI théorique	CAS#
11,9	α -Phellandrene	5,65	1003	1003	[90]	99-83-2
12,5	p-Cymene	4,33	1024	1020	[91]	99-87-6
12,7	Limonene	37,5	1031	1025	[91]	138-86-3
13,3	β -Ocimene	1,90	1048	1051	[92]	3338-55-4
19,1	Néral	17,5	1245	1249	[92]	106-26-3
19,9	Géranial	22,4	1276	1270	[93]	141-27-5
22,4	2,3-Dimethylhydroquinone	2,26	1369	N.I		608-43-5

23,8	β -Caryophyllene	2,94	1424	1424	[94]	87-44-5
25,4	Germacrene D	5,48	1486	1480	[95]	18252-44-3

Le **Tableau 6** synthétise l'activité insecticide à travers différents modes d'action des terpènes présents dans la composition de l'HE de *L. alba* [64]. Le géraniol et le néral sont deux formes isomériques du citral. Les deux formes ont des propriétés similaires.

Les monoterpènes présentent tous une activité insecticide à travers différents modes d'action. Seul le germacrene D n'a pas été le sujet d'études plus poussées concernant son activité insecticide. Le 2,3-Dimethylhydroquinone n'est pas une molécule biogène et est certainement causé par une contamination externe.

Il a été démontré que l'activité insecticide d'une HE est liée à ses molécules majoritaires et minoritaires. Toutes les molécules ont donc une importance. Dans l'HE de *L. alba*, les composés minoritaires présenteraient des effets synergiques à l'activité insecticide des composés majoritaires à travers différents modes de fonctionnement[26]. Ces modes de fonctionnement variés ciblent différents systèmes à savoir le système nerveux, le système neuromusculaire, le système mitochondrial et le système hormonal. Il est intéressant d'exploiter différents modes pour le développement d'un bio-insecticide car l'insecte rencontrera des difficultés à développer des gènes de résistance. Il est important de garder en tête que l'efficacité insecticide du composé dépend notamment du mode d'action, de l'insecte ciblé et de son stade de développement. Dans le **Tableau 6**, les études qui ont ciblé *Sitophilus zeamais* sont en orange. Les autres études qui ont ciblé d'autres insectes ravageurs des récoltes sont en noir. À travers sa composition, il est donc possible d'affirmer que l'HE de *L. alba* est une bonne candidate pour la conception d'un bio-insecticide.

Un autre facteur important à prendre en considération dans la conception d'une formulation d'un bio-insecticide est la variabilité de la composition de l'huile essentielle. Les recherches sur *L. alba* au Sénégal en collaboration avec le laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles sont réalisées depuis maintenant quatre ans et des analyses de sa composition ont montré que le limonène, le phellandrene et le caryophyllene sont des composés retrouvés de manière récurrente dans sa composition (section 3 en Annexe). Le limonène semblerait avoir un taux de toxicité semblable aux insecticides chimiques commercialisés et fait partie des composés majoritaires présents chaque année dans l'HE. Étant donné que la composition de l'huile essentielle peut varier, il faudrait récolter *L. alba* à différents moments de l'année ainsi qu'à différents endroits et analyser sa composition. Ces analyses consisteraient à affirmer ou infirmer son chémotype en limonène afin de justifier son efficacité indépendamment des facteurs pédo-climatiques liés à sa croissance au Sénégal.

Tableau 6 :Récapitulatif des composés naturels présents dans l'huile essentielle de L. alba qui possèdent un potentiel insecticide testé selon différents modes d'action sur différents insectes résumés dans la revue de Karabörklü et al.2023 [64] où « + » signifie que le composé possède un effet insecticide, « ++ » signifie que le composé possède une efficacité insecticide

comparable aux insecticides chimiques et la case grise indique que le composé n'a pas été soumis à des recherches avancées. Les écritures en orange ciblent *S. zeamaïs*, en gris d'autres insectes ravageurs des récoltes.

Composé naturel	Fumigation	Contact	Effet répulsif	Dissuasion alimentaire	Diminution de reproduction	Inhibition physiologique
α -Phellandrene	+	+				
p-Cymene	+	+	+			
Limonène	++	++	+	+	+	+
Ocimène	++		+			
Citral	+	++	+			
Caryophyllene		+	+	+	+	+
Germacrene D						

4.2 ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS INSECTICIDES DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *L. ALBA*

La lutte contre les insectes ravageurs des récoltes peut être scindée en deux parties. La première partie concerne la fumigation de gaz toxiques durant la période de stockage. La seconde partie concerne la lutte qui vise à éliminer les ravageurs avant la mise en stockage des denrées par une application par vaporisation sur les grains et donc une application par contact. En combinaison avec des lieux de stockage adaptés. Dans cette section, l'activité insecticide par fumigation et par contact ainsi que l'effet répulsif sont testés.

4.2.1 Fumigation

D'après les analyses, 24h de fumigation ne sont pas suffisant pour atteindre une activité insecticide significativement différente du témoin ($P_{\text{valeur}} > 0,05$; **Tableau 7**). C'est à partir de 48h que la mortalité montre une significativité pour toutes les doses ($P_{\text{valeur}} < 0,05$; **Tableau 7**). Une mortalité de 100% est atteinte au bout de 72h pour une concentration de 0,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ d'air et au bout de 96h pour les concentrations de 0,15 et 0,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ d'air (**Figure 14**). Le témoin n'indique pas de mortalité significative au cours du temps ce qui prouve que les vapeurs d'HE sont les seules responsables de la mort des insectes.

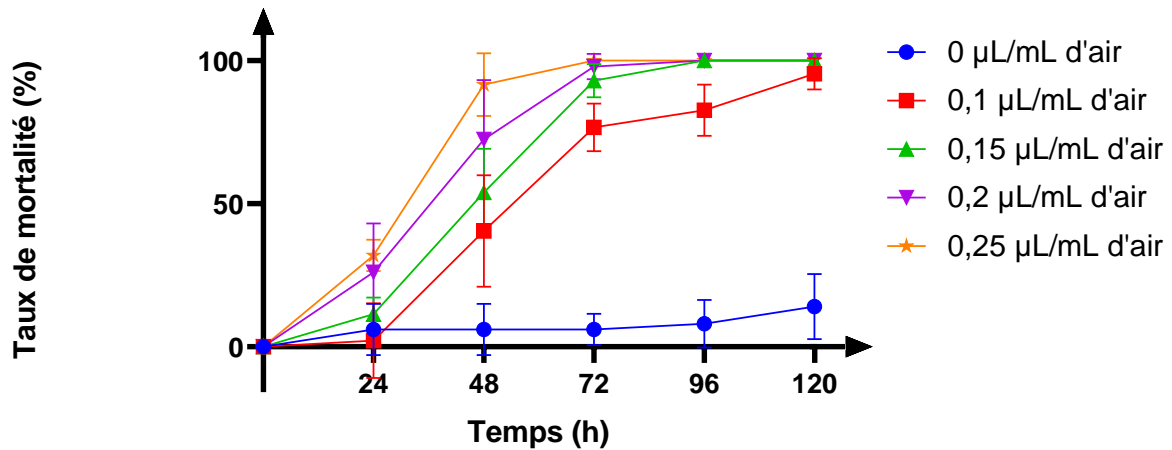


Figure 14 : Graphique du taux de mortalité de *S. zeamais* par fumigation de différentes concentrations en huile essentielle de *L. alba* en fonction du temps. Les concentrations sont fonction du volume d'air du bocal qui est égal à 380mL d'air (n=5)

Tableau 7: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes de l'échantillon témoins avec les moyennes des échantillons traités par différentes concentrations en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif

	Fumigation			
	0,1 µL/mL d'air	0,15 µl/mL d'air	0,2 µl/mL d'air	0,25 µl/mL d'air
	p-valeur	p-valeur	p-valeur	p-valeur
24h	0,99514	0,21499	0,05749	0,00063 ***
48h	0,0183 *	0,00015 ***	0,0005 ***	<0,00001 ***
72h	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***
96h	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***
120h	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***

4.2.2 Contact

Dans la **Figure 15**, une mortalité de 100% est atteinte au bout de 24h pour une concentration de 16 et 20 µL/mL. Les moyennes sont significativement différentes ($P_{\text{valeur}} < 0,05$; **Tableau 8**) du témoin pour toutes les doses ce qui implique un effet significatif du facteur dose et permet d'affirmer un effet insecticide. De plus, le témoin n'indique pas de mortalité ce qui prouve que l'HE est la seule responsable de la mort des insectes.

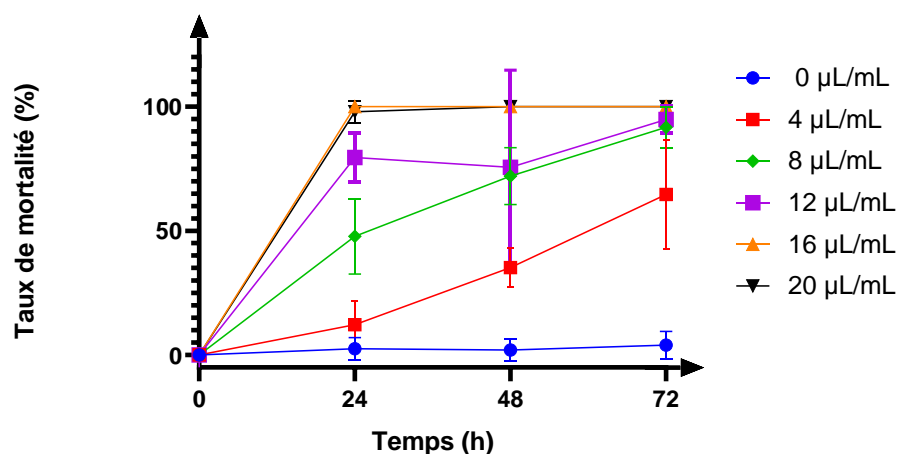


Figure 15: Graphique du taux de mortalité de *S. zeamais* par contact de différentes concentrations en huile essentielle de *L. alba* en fonction du temps. (n=5)

Tableau 8: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes de l'échantillon utilisé comme témoin avec les moyennes des échantillons traités en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif

	Contact				
	4 µL/mL	8 µL/mL	12 µL/mL	16 µL/mL	20 µL/mL
	p-valeur	p-valeur	p-valeur	p-valeur	p-valeur
24h	0,00022 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***
48h	<0,00001 ***	0,00346 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***
72h	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***	<0,00001 ***

L'utilisation d'insecticides à travers la fumigation requiert un stockage étanche pour éviter l'infiltration d'air et garantir l'efficacité du produit. Il est, de plus, nécessaire d'avoir une surveillance de l'atmosphère afin d'avoir une concentration de gaz approprié pour un traitement efficace. Néanmoins, au Sénégal, le type d'infrastructures ne répond pas à ces demandes ce qui remet en doute la formulation d'un insecticide à appliquer par fumigation. En outre, son activité lente pourrait également poser problème dans le cas où l'insecte a le temps de pondre à l'intérieur du grain. La larve pourrait être protégée des molécules actives et finir son cycle de développement après que l'activité insecticide a perdu son efficacité. Il serait d'ailleurs intéressant de poursuivre l'étude sur l'effet larvicide que possède l'HE. Il est tout de même pertinent d'énoncer que les molécules terpéniques volatiles ont un effet insecticide par inhalation sur l'insecte *Sitophilus Zeamais*.

De plus c'est seulement à partir de 48h de fumigation qu'il y a une différence significative entre les échantillons traités et le témoin. La dose minimale appliquée est 38 µL (0,1µL/mL d'air) alors que pour le contact, il y a un effet insecticide à partir de 24h pour une dose minimale appliquée de 4 µL (**Figure 15** et **Tableau 8**). Pendant les essais à travers le mode d'action "par contact", l'huile essentielle est déposée sur le grain de sorte qu'elle le recouvre d'une fine pellicule. Les insectes qui sont en contact avec l'HE peuvent par conséquent, la toucher, l'ingérer et la respirer. Il est donc possible de supposer

que le contact et l'ingestion de l'huile essentielle possèdent un effet synergique à la fumigation et amènent 100% de mortalité plus rapidement en utilisant moins d'huile essentielle.

Il est à noter que dans cette étude, l'huile essentielle est diluée dans de l'acétone, mais ce solvant n'est pas considéré comme « vert » et peut avoir un impact négatif sur l'environnement. L'huile essentielle pourrait être diluée dans de l'eau grâce à l'utilisation de tensioactifs pour créer une émulsion. L'utilisation de tensioactif comme de polysorbat 80 (E433), la gomme arabique (E414) ou la carraghénane (E407) sont approuvés dans le règlement (CE) n°1333/2008 sur les additifs alimentaires en respectant certaines conditions. Les émulsifiants alimentaires autorisés portent un numéro entre E400 et E499. Ces derniers permettent de disperser l'huile essentielle dans de l'eau et ainsi sa vaporisation sur les grains avant leur stockage.

Au Sénégal, les mesures conseillées pour une bonne conservation du grain ne sont généralement pas adaptées à la réalité de terrain. Pour rappel, 80% des grains sont stockés dans des greniers. Ces derniers sont propices à de nouvelles infestations après leur stockage. L'idéal serait de formuler un insecticide par contact rémanent ce qui amènerait une efficacité dans le temps. La prochaine section de ce travail portera sur la conservation des composés terpéniques d'intérêts dans le temps.

4.2.3 Répulsion

Suivant le classement de Mc Donald (1970), l'huile essentielle possède un effet répulsif en plus de son activité toxique contre *S. zeamais* pendant au moins 60 min (**Tableau 9** et **Tableau 10**).

Tableau 9: Tableau du taux de répulsion de l'huile essentielle de *L. alba* par rapport au classement selon Mc Donald et al (1970) repris dans la section 1 dans l'annexe (n=5)

µL d'HE	Temps (min)				Propriétés répulsives
	15	30	45	60	
	Taux de répulsion (%)	Taux de répulsion (%)	Taux de répulsion (%)	Taux de répulsion (%)	
0	12,0 ± 36,3	12,0 ± 22,8	0,0 ± 26,3	20 ± 26,5	Très faiblement
4	84,0 ± 8,37	84,0 ± 8,37	80,0 ± 35,8	84,0 ± 8,37	Très forte
6	80 ± 20,0	88,0 ± 17,9	96,0 ± 8,9	96,0 ± 8,9	Très forte
8	76,0 ± 8,9	84,0 ± 16,7	84,0 ± 8,9	90,0 ± 11,0	Très forte

Tableau 10: Classement des pourcentages de répulsion selon Mc Donald et al (1970)

Classe	Intervalle de répulsion	Propriétés
0	PR ≤ 0,1%	N'est pas répulsif
I	0,1% < PR ≤ 20%	Très faiblement répulsif
II	20% < PR ≤ 40%	Faiblement répulsif
III	40% < PR ≤ 60%	Modérément répulsif
IV	60% < PR ≤ 80%	Répulsif
V	80% < PR ≤ 100%	Très répulsif

L'huile essentielle possède un effet très répulsif contre *S. zeamais* ce qui peut être intéressant pour une application lors du transport du grain ou lors du séchage du grain à l'extérieur comme mesure préventive contre à infestation initiale.

4.3 VALORISATION DES RESSOURCES LOCALES SENEGALAISES POUR FORMULER UN BIO-INSECTICIDE

Pour la formulation d'un insecticide, il est primordial de se confronter à la réalité de terrain. En zone rurale au Sénégal, en plus de prendre en compte une possible contamination au champ, il faut considérer que la plupart des entrepôts de stockage ne sont pas étanches. Ce qui pourrait induire une contamination post-récolte. L'idéal serait de développer un insecticide de contact rémanent possédant une activité dans le temps pour, d'une part tuer les insectes déjà présents dans le grain avant son stockage et d'autre part, toucher les infestations post-récoltes au niveau du stockage.

Dans cette étude, la valorisation de ressources locales est choisie afin que la formulation testée soit accessible à tous. La poudre d'argile a été choisie pour la formulation d'un bio-insecticide car elle possède un potentiel effet synergique par une activité insecticide mécanique sur l'insecte. Elle a également une capacité adsorbante pour un potentiel relargage lent dans le temps des molécules terpéniques d'intérêts. Pour formuler le bio-insecticide avec de l'argile sénégalaise et de l'HE de *L. alba*, l'effet insecticide des différentes argiles a d'abord été testé. Ensuite, l'effet insecticide de la formulation de poudre d'argile et d'HE sera testé Pour terminer, la rémanence des composés terpéniques sur les différentes argiles sera mesurée ainsi que l'adsorption du limonène.

4.3.1 Effet insecticide de l'argile seule

L'argile 1 et l'argile 2 ont été récoltées, et contiennent respectivement un taux de SiO₂ de 17% et 41%. La montmorillonite K10 est testée comme témoin positif étant donné qu'elle a été le sujet de diverses études en formulation avec d'autres substances.

Suite aux expérimentations et aux tests statistiques, il est possible d'affirmer que les moyennes du taux de mortalité obtenues après le traitement de l'argile 1 et de l'argile 2 ne possèdent pas de différence significative par rapport aux échantillons non traités par une argile ($P_{\text{valeur}} > 0,05$ **Tableau 11**). L'argile 1 et l'argile 2 ne possèdent donc pas d'effet insecticide seules. Il est à noter une donnée aberrante pour l'argile 1 à 96h. La montmorillonite possède à elle seule un potentiel insecticide significativement différent du témoin à partir de 24h ($P_{\text{valeur}} < 0,05$; **Tableau 11**) et atteint les 100% au bout de 72h (**Figure 16**).

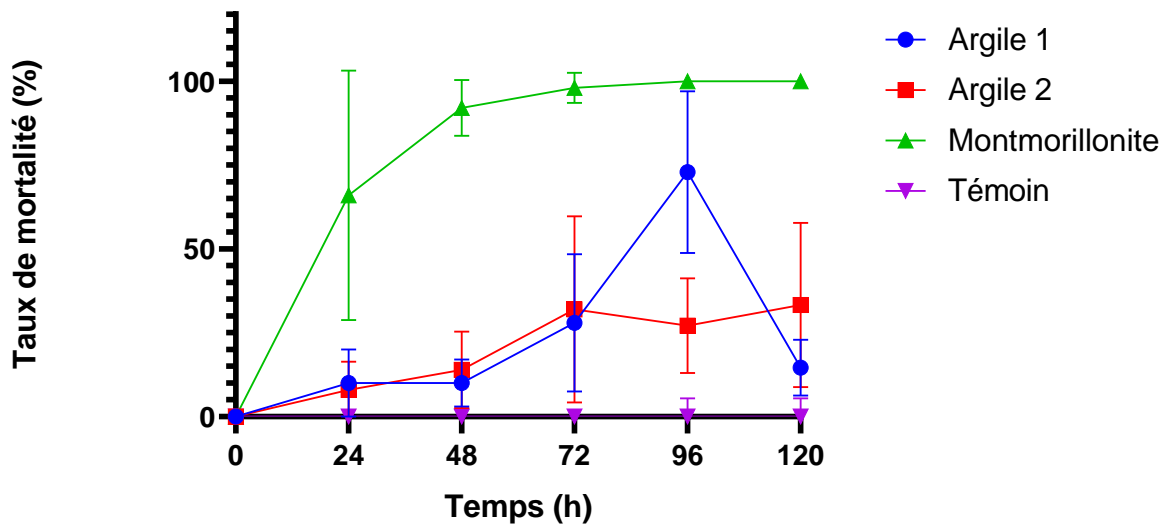


Figure 16: Graphique du taux de mortalité de *S. zeamais* par contact de différentes argiles d'argile en fonction du temps (n=5)

Tableau 11: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes de l'échantillon sans traitement avec les moyennes des échantillons traités en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif

Argiles seules			
	Argile 1	Argile 2	Montmorillonite
	p valeur	p valeur	p valeur
24h	0,09696	0,09716	0,0041 **
48h	0,05234	0,09716	<0,00001 ***
72h	0,05234	0,09716	<0,00001 ***
96h	0,00162	0,05382	<0,00001 ***
120h	0,09696	0,09716	<0,00001 ***

Concernant l'analyse des insectes au binoculaire, la **Figure 17** ne montre aucun résidu argileux provenant des argiles 1 et 2 sur la cuticule de l'insecte tandis que la montmorillonite recouvre l'entièreté de ces derniers. L'observation des insectes à différent temps n'a pas montré de différence entre les échantillons. Les poudres ont été tamisées avec des tamis allant de 500 à 25 microns et leur distribution granulométrique est reprise dans le **Tableau 12**. La montmorillonite possède des particules allant de 125 à inférieur à 25 microns tandis que l'argile 1 et l'argile 2 possèdent une distribution des particules qui s'établit entre 250 et 100 microns.

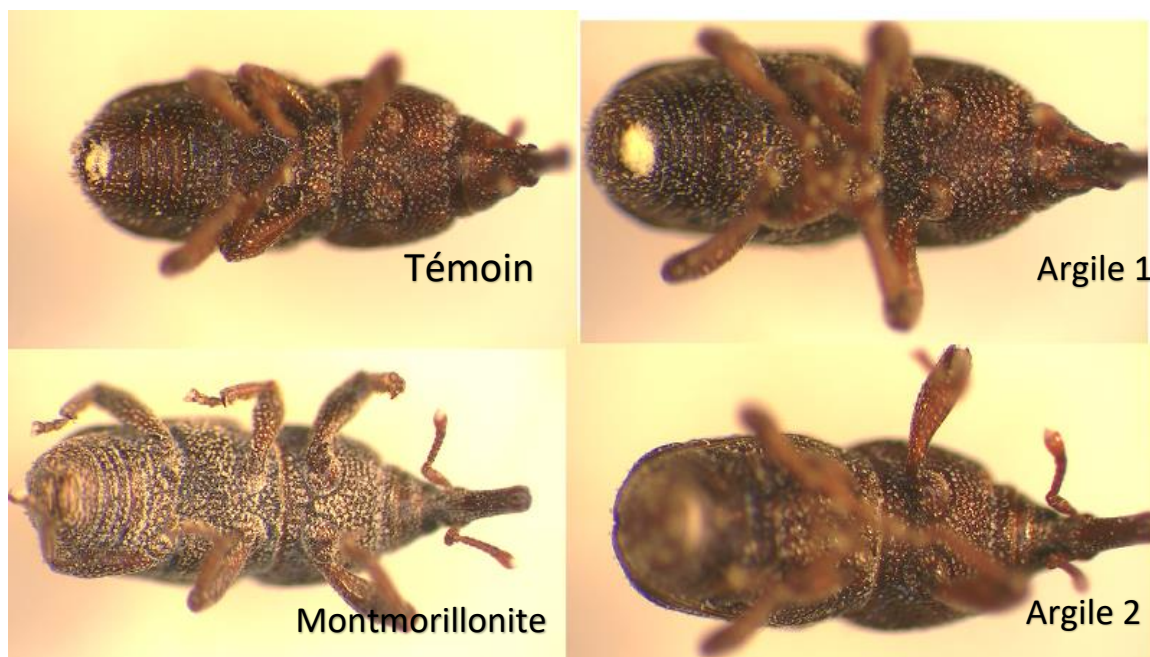


Figure 17: Photos de profil de *S. zeamais* réalisées au binoculaire après qu'ils aient été en contact avec trois argiles (argile 1, argile 2 et montmorillonite) et un témoin..

Tableau 12: Distribution de la granulométrie réalisée au tamis présente dans chaque argile (%)

	μm (%)										Total (%)
	500	400	250	200	177	125	100	50	25	< 25	
Argile 1	0	0	35,5	15,5	25,0	20,0	4,0	0	0	0	100
Argile 2	0	0	15,8	27,8	12,7	32,8	10,9	0	0	0	100
Montmorillonite	0	0	0	0	0	35,2	43,4	6,6	6,3	8,5	100

La cuticule des insectes est une cible idéale pour le développement d'insecticides. En effet, elle représente l'interface entre l'animal et l'environnement et remplit des rôles importants pour la survie de celui-ci. C'est pourquoi l'utilisation de poudres à action mécanique sur la cuticule est déjà utilisée traditionnellement dans la lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées au Sénégal [11]. Plus celle-ci est petite et plus la cuticule de l'insecte va adsorber la poudre ce qui va augmenter significativement son effet insecticide.

Dans la littérature, l'utilisation de montmorillonite ayant une granulométrie qui s'établit autour de 2 μm montre une activité insecticide [49]. Dans cette étude le tamisage a été limité à 25 μm . Il serait intéressant de compléter la mesure de sa distribution par d'autres techniques, comme la microscopie ou l'analyse de la distribution de la taille des particules en suspension. Quant à la distribution granulométrique des argiles locales, elle est nettement supérieure à celle de la montmorillonite ce qui pourrait justifier leur inefficacité. Une granulométrie plus fine des argiles sénégalaises pourrait être obtenue par broyage et par agitation à l'ultrason.[96]

L'observation au binoculaire n'a pas pu être réalisée sur des insectes frais ce qui limite l'analyse de ces derniers. Les images microscopiques pourraient affirmer ou infirmer la présence de microcoupures et donc la mort de l'insecte par dessiccation. L'analyse des spiracles (organes respiratoires) pourrait également apporter l'information d'une potentielle obstruction.

Il serait également pertinent de poursuivre l'étude en testant l'effet insecticide de la montmorillonite à moindre dose. Dans cette étude, 1g est utilisé pour 20g de maïs. Cette quantité est bien loin de la dose recommandée qui est de l'ordre de 0,5 à 1kg.t⁻¹ [46].

Pour ce qui concerne la donnée aberrante, cinq répétitions ont été réalisées pour chaque test, mais le nombre de répétitions pourrait être revu à la hausse afin d'améliorer la robustesse des tests.

4.3.2 Effet insecticide de la formulation entre de l'argile locale et l'huile essentielle de *L. alba*

Pour rappel, 1g d'argile et 20µL d'huile essentielle sont présents dans les échantillons. Concernant les tests utilisant la formulation entre de l'argile locale et l'huile essentielle de *L. alba* l'efficacité diverge selon l'argile utilisée. La montmorillonite/HE est significativement différente du témoin dans le temps dès 24h ($P_{\text{valeur}} < 0,05$; **Tableau 13**). Cela implique que la formulation possède un effet insecticide. L'argile 1/HE démontre son efficacité à partir de 48h ($P_{\text{valeur}} < 0,05$; **Tableau 13**). Quant à l'argile 2/HE ne montre pas de différence significative par rapport au témoin ($P_{\text{valeur}} > 0,05$; **Tableau 13**) (**Figure 18**).

Figure 18 : Graphique du taux de mortalité de *S.zeamais* par contact de différentes concentrations en huile essentielle de *L. alba* en fonction du temps. (n=5)

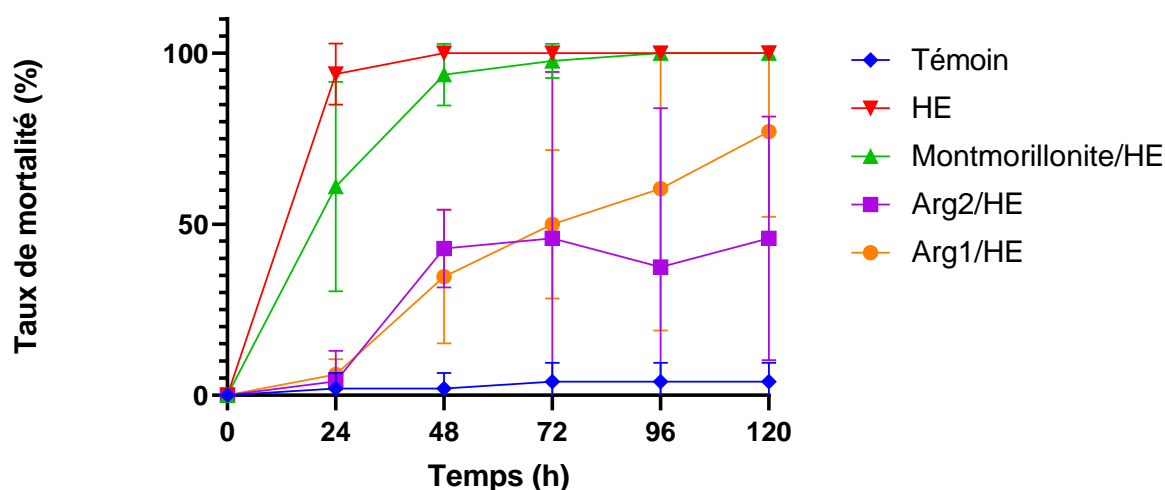


Tableau 13: P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes des échantillons traités avec les différentes argiles avec les moyennes des échantillons non-traités en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif

	Formulation		
	Argile 1/HE	Argile 2/HE	Montmorillonite/HE
	p-valeur	p-valeur	p-valeur
24h	0,1175	0,44791	0,00307 ***
48h	0,02822	0,41333	<0,00001 ***
72h	0,01098	0,32282	<0,00001 ***

96h	0,04693	0,34543	<0,00001 ***
120h	0,04693	0,34543	<0,00001 ***

Lorsque l'efficacité des différentes argiles est comparée seule ou en formulation avec l'HE, il en ressort que l'efficacité des argiles locales employées seules ou en formulation avec de l'huile essentielle reste la même ($p_{\text{valeur}} > 0,05$; **Tableau 1414**). La montmorillonite garde son effet insecticide inchangé dans les deux utilisations.

*Tableau 14 : P-valeurs obtenues en appliquant la distribution de student pour comparer les moyennes des échantillons traités avec l'argile seule avec les moyennes des échantillons traités avec la formulation argile + huile essentielle en fonction du temps (section 2 en Annexe). * significatif, ** très significatif et *** hautement significatif*

Argile vs Formulation argile/HE			
	Argile1 vs Argile1/HE	Argile2 vs Argile2/HE	Montmorillonite vs Montmorillonite /HE
	p-valeur	p-valeur	p-valeur
24h	0,73643	0,96901	0,98863
48h	0,14512	0,34701	0,98863
72h	0,37578	0,96901	0,98863
96h	0,73643	0,96901	/
120h	0,15039	0,96901	/

La littérature indique qu'il existe une corrélation entre la quantité en SiO₂ et l'activité insecticide qui est largement supérieure dans l'argile 2 [97]. Cependant seule l'argile 1 possède un effet insecticide à partir de 48h. Les résultats de cette étude sont donc surprenants. Il est à noter que le taux de mortalité n'atteint jamais les 100% pour les formulations avec les argiles locales soulignant leur inefficacité comparée à la montmorillonite.

La même quantité d'huile essentielle qui a donné 100% de mortalité est utilisée dans la formulation de poudre d'argile. Une inefficacité de la formulation amène une première hypothèse que l'huile essentielle n'a pas été répartie de manière homogène sur la poudre d'argile. L'utilisation d'un solvant permet une meilleure adsorption homogène des molécules terpéniques sur la poudre [78]. Cependant, des problèmes de persistance du solvant peuvent amener des problèmes de toxicité sur le produit fini. C'est la raison pour laquelle aucun solvant n'a été utilisé dans cette partie de ce travail.

L'autre hypothèse est qu'en 5 jours, les molécules terpéniques n'ont pas été relarguées. Un potentiel effet insecticide pourrait résider plus loin dans le temps si l'argile possède une capacité d'adsorption à relargage lent des molécules d'intérêt. Cette rémanence est testée et discutée dans la partie suivante.

4.3.3 Rémanence de l'huile essentielle dans la poudre d'argile

Le suivi des molécules a exclusivement été réalisé sur le limonène, le néral, le géraniol et le p-cymène pour les monoterpènes et le germacrene D pour les sesquiterpènes. Ce choix a pour but de faciliter les analyses des cartouches par la GC-MS en excluant directement les contaminations liées aux cartouches et aux blancs. De plus, pour éviter la perte d'informations à cause d'une percée de la cartouche (saturation), une cartouche de garde est mise en série après la première cartouche. La division de l'abondance de la molécule par le volume permet la normalisation des données.

Un témoin positif constitué uniquement de 20µL d'huile essentielle de *L. alba* est également réalisé. Dans ces échantillons le limonène et le p-cymène ne sont plus présents dans l'échantillon après 24h. Le germacrene D reste légèrement présent jusqu'à 48h et le néral et le géraniol sont toujours présents après 96h (**Figure 19**).

Lors du pompage des composés organiques volatils de la formulation de poudre, les résultats montrent une légère rémanence du limonène jusque 48h et une rémanence du p-cymène jusque 96h pour l'argile 1. L'argile 2 et la montmorillonite ne possèdent pas ou très peu de rémanence des composés terpéniques étant donné qu'au bout de 48h aucune molécule terpénique d'intérêt n'émane encore de la poudre.

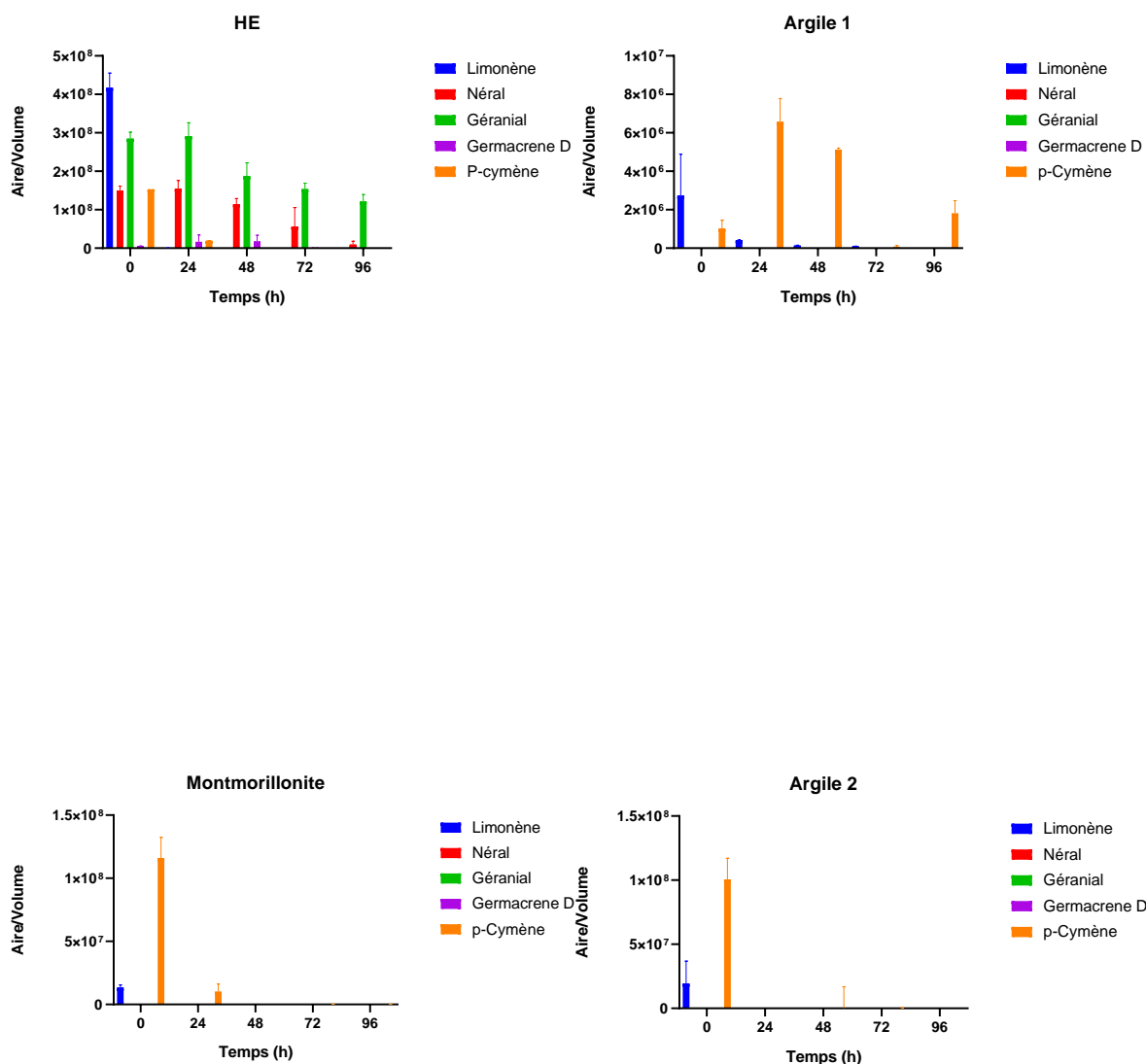


Figure 19: Évaluation de la rémanence des molécules d'intérêts sur les différentes argiles par un système de collecte des volatiles et analyse à la GC-MS (n=3)

Lors du pompage la température a été maintenue à 30°C. Les composés organiques volatils ont donc pu se volatiliser directement. Il a été démontré que même fixé sur un adsorbant, tous les composés terpéniques sont capables de se volatiliser à 20°C [82].

Cependant, une meilleure rémanence dans le témoin positif démontre que le problème ne réside pas dans la volatilité des composés terpéniques, mais plutôt dans la préparation de la formulation poudreuse et dans l'affinité des composés avec la poudre d'argile.

Pour rappel, à Dakar, l'huile essentielle a directement été placée sur l'argile et ensuite, le mélange a été homogénéisé pour chaque échantillon. Cependant, en Belgique, la formulation a d'abord été préparée, homogénéisée, et seulement ensuite distribuée dans les échantillons. Une mauvaise répartition de l'huile essentielle sur l'argile a pu empêcher une formulation d'une poudre homogène et donc une mauvaise répartition dans les différents échantillons. Des recherches récentes visent à l'optimisation de l'adsorption de l'huile essentielle sur l'argile en utilisant une technique d'adsorption/évaporation sans l'utilisation de solvant organique ou de haute température [49]. L'argile

est mise sous scellé dans un four avec du quartz contenant de l'HE. Le four chauffe, les molécules actives s'évaporent et viennent s'adsorber sur l'argile de manière homogène [78].

Afin de discuter du pouvoir adsorbant de différentes argiles, une cinétique d'extraction du limonène est réalisée dans le point 4.3.4.

Concernant la méthode d'analyse, à 0h, le pompage est réalisé jusqu'à atteindre 0,5 L pour éviter une adsorption trop concentrée sur la cartouche et donc un chevauchement sur le chromatogramme qui empêcherait de reconnaître les molécules. À partir de 24h, étant donné que les cartouches n'ont pas ou très peu adsorbé de composés volatils, il a été décidé de pomper jusqu'à 1,5 L. Cependant, malgré un temps de pompage plus élevé, les molécules ne sont pas plus adsorbées. La cartouche de garde possède de légères traces de limonène pour le témoin positif ce qui indique bien percée. Pour la formulation, elle indique une percée de la cartouche pour 24h avec de légères quantités de limonène dans la 2^e cartouche. Pour la suite de la cinétique, aucune molécule d'intérêt n'a été adsorbée sur la deuxième cartouche ce qui confirme que les molécules d'intérêt n'ont pas été pompées.

4.3.4 Cinétique d'extraction du limonène

Une cinétique d'adsorption a été réalisée en utilisant un standard de limonène. Le limonène est la molécule majoritaire de l'huile essentielle de *L.alba* et présente une activité insecticide semblable à l'efficacité des produits chimiques (**Tableau 6**). Il a donc été pertinent d'utiliser ce standard pour suivre son adsorption sur les différentes argiles. Pour rappel, 1 mL de solution à concentration de $2\mu\text{L.mL}^{-1}$ est introduit sur les différentes argiles pour ensuite être homogénéisé. Une extraction du limonène avec 10 mL d'hexane a ensuite été réalisée aux temps 0,1,2,3,6 et 12h. Le but de cette manipulation est de savoir si le limonène possède des affinités avec les différentes argiles.

La cinétique d'extraction par les différentes argiles montre qu'au temps 0h, seulement $0,326\mu\text{L.mL}^{-1}$; $0,321\mu\text{L.mL}^{-1}$; $0,236\mu\text{L.mL}^{-1}$ est respectivement extrait de l'argile 1, l'argile 2 et la montmorillonite. Soit 16,3%, 16,05% et 11,8% du limonène introduit au départ. Au bout de 1h, plus aucune trace de limonène n'est extrait (**Figure 21**: Cinétique d'extraction du limonène adsorbé sur les différentes argile

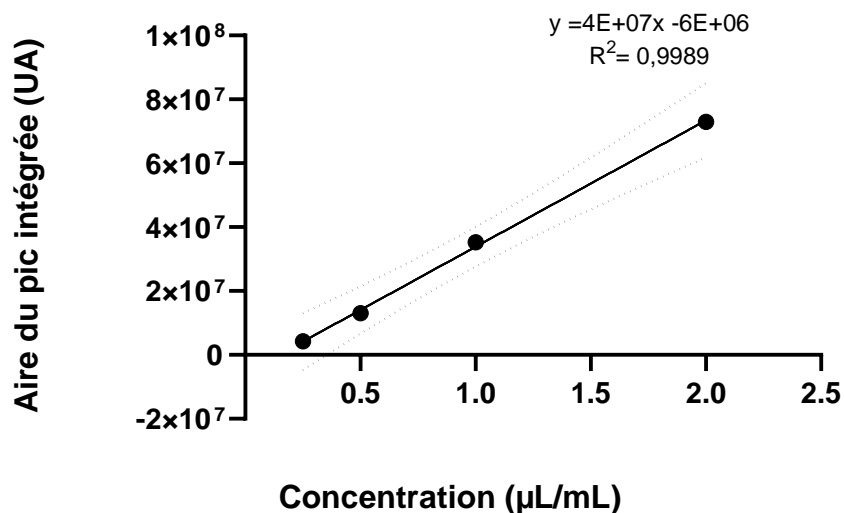


Figure 20: Droite de calibration du limonène. L'abscisse donne la concentration du limonène en $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ et l'ordonnée donne la surface du pic intégrée donnée en unité d'air (UA). Le graphe montre l'équation de régression linéaire et son coefficient de détermination. ($n=3$)

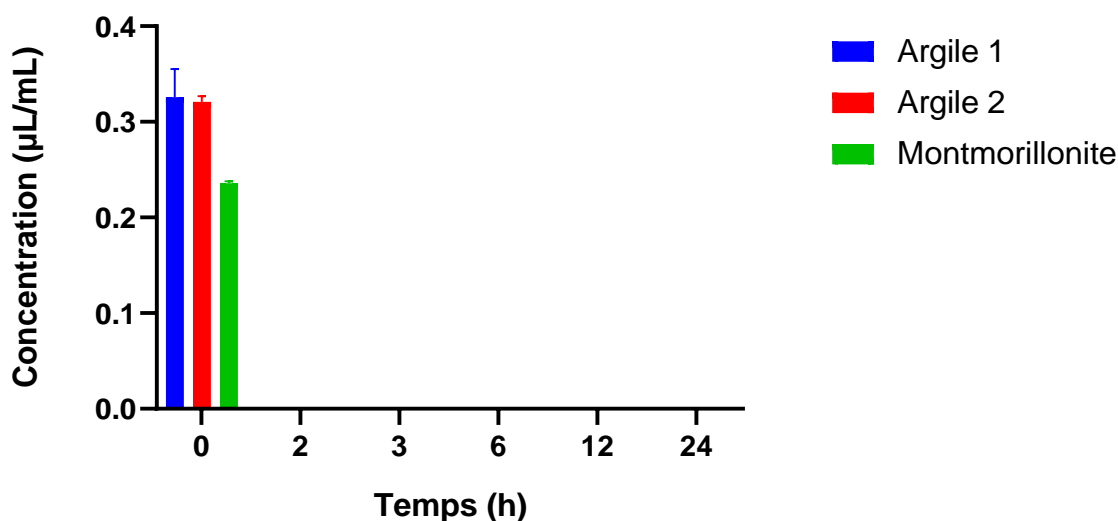


Figure 21: Cinétique d'extraction du limonène adsorbé sur les différentes argiles à travers le temps

Les résultats indiquent que le limonène n'est plus présent au bout de 1h dans la cinétique d'adsorption. Les formulations poudreuses telles qu'elles ont été préparées ne possèdent pas de capacités adsorbantes. L'adsorption varie avec la nature du composé terpénique, avec l'adsorbant, avec la température et avec l'humidité[82]. L'efficacité d'une formulation poudreuse est tributaire de l'huile essentielle et des traitements préalables de l'argile. Il a été démontré qu'il y a une meilleure fixation des adsorbats en utilisant des argiles modifiées. L'argile peut être modifiée de différentes façons :

- Activation thermique : Augmentation de la porosité et de la surface spécifique de l'argile de par son chauffage entre 200 et 600°C [78].

- Modification de la microstructure de l'argile en insérant des complexes cationiques de grandes tailles [82]. La modification de la montmorillonite au sodium échangé (Na⁺-Mt) a démontré un relargage plus lent du thymol et du carvacrol [49]
- Modification de l'hydrophobicité de la poudre en intercalant des molécules amphiphiles [82].
- Modification acide ou basique du pH de la poudre [82].
- Mélange avec d'autre adsorbant naturel tel que l'alginate de calcium pour créer un support mixte qui améliore l'adsorption des huiles essentielles en augmentant la diversité des sites de liaison [79][98]

Cependant, un des objectifs de cette étude est la valorisation de ressources locales accessible à tous. Suite à ces dernières expérimentations, l'argile locale n'a ni démontré une activité mécanique, ni démontré de pouvoir adsorbant. Comme mentionné précédemment, la formulation pourrait être optimisée afin de rendre la poudre d'argile plus adsorbante mais la simplicité d'application des insecticides est contre les ravageurs est prioritaire pour garantir une accessibilité pour tous. L'application de plantes séchées, de plantes fraîches, ou de poudre de plante pourrait être étudiée. Afin de faciliter leur utilisation, le but serait de limiter les procédés physiques tout en gardant une activité insecticide ce qui faciliterait leur utilisation. Une étude a déjà démontré l'efficacité de feuilles fraîches et de fruits de *B.senegalensis* contre un insecte ravageur de l'arachide, *Caryedon serratus* [99].

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail avait pour objectif de développer une formulation insecticide en utilisant des ressources locales du Sénégal à savoir l'huile essentielle de *Lippi alba* et deux argiles contre *Sitophilus zeamais*, insecte ravageur des récoltes de maïs. Dans ce cadre, différents objectifs ont été étudiés à travers différentes expérimentations :

L'identification de la composition de l'huile essentielle de *L. alba* a permis de savoir que ses composés majoritaires sont le limonène (37,5%), gèranial (22,4%) et le néral (17,5%). L'huile essentielle est composée presque exclusivement de molécules ayant démontré leur potentiel insecticide à travers différents modes d'action dans de précédentes études. Sa composition en fait donc une excellente candidate pour son utilisation en tant que bio-insecticides.

Le deuxième objectif a été **d'identifier le moyen d'application** le plus efficace à moindre dose de l'huile essentielle. Dans la réalité, il est possible d'éliminer les insectes ravageurs des récoltes (i) avant la mise en entrepôt des grains en appliquant un insecticide par contact ou (ii) durant son stockage à travers la fumigation d'un gaz toxique. La toxicité de l'HE s'est avérée efficace pour les deux types d'application. Cependant, une efficacité à moindre dose et plus rapide a été relevée à travers le test par contact. De plus, l'huile essentielle possède un effet répulsif. Les résultats obtenus dans cette expérience ont permis d'identifier d'autres pistes pour des travaux futurs, celles-ci comprennent (i) l'évaluation de l'impact de l'huile essentielle sur la survie des larves de *S. zeamais* qui permettrait d'amener des connaissances sur la capacité des composés terpéniques à pénétrer dans le grain et (ii) l'application de plantes séchées, de plantes fraîches ou de poudre de plante comme bio-insecticide.

Ensuite, cette étude s'est attelée à proposer une piste **d'amélioration de l'effet insecticide** en utilisant de la poudre d'argile locale et de la montmorillonite commerciale comme témoin positif. Les poudres ont d'abord été testées seules pour savoir si elles possèdent un pouvoir insecticide à travers un mode d'action mécanique. Ces essais se sont toutefois montrés infructueux pour les argiles locales, mais efficaces pour la montmorillonite. La différence d'efficacité réside certainement dans la granulométrie de la poudre qui était trop grosse dans le cas des argiles locales. Il serait intéressant de tester la montmorillonite à plus faible dose de même que d'affiner la granulométrie des argiles locales dans de futurs travaux.

La **formulation d'une poudre d'argile et d'huile essentielle** a ensuite été élaborée pour tester le relargage prolongé dans le temps des molécules terpéniques d'intérêt à travers l'effet adsorbant de l'argile. Cette formulation n'a pas pu être optimisée et n'a pas montré de rémanence des composés terpéniques. Plusieurs limitations ont été ciblées et pourront être optimisées dans de prochaines études telles qu'obtenir une poudre homogène pour la formulation et l'utilisation d'argile modifiée pour améliorer l'adsorption des composés terpéniques.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Le SENEGAL EN BREF | Ministère de l'Economie, du Plan et de la Coopération [Internet]. [cited 2023 Apr 6]. Available from: <https://www.economie.gouv.sn/fr/investir-au-senegal/le-senegal-en-bref>
2. Rapport définitif du RGPHAE 2013 [Internet]. [cited 2023 Apr 6]. Available from: <https://anads.ansd.sn/index.php/citations/74>
3. Sénégal | Data [Internet]. [cited 2023 Apr 14]. Available from: <https://donnees.banquemondiale.org/pays/senegal>
4. OCDE. Examen multidimensionnel du Sénégal, les voies de développement. Volume 1. OECD; 2017. (Les voies de développement).
5. Amadou SEM, Mme SE, Wiegman JJJ, Du A. Document de stratégie conjointe EU-Sénégal [Internet]. 2022 [cited 2023 Apr 6]. Available from: https://international-partnerships.ec.europa.eu/system/files/2022-01/mip-2021-c2021-9362-senegal-annex_fr.pdf
6. APHLIS - Le Système d'information Africain sur les pertes post-récolte [Internet]. [cited 2023 Apr 16]. Available from: <https://www.aphlis.net/fr>
7. Kumar D, Kalita P. Reducing Postharvest Losses during Storage of Grain Crops to Strengthen Food Security in Developing Countries. *Foods*. 2017 Jan 15;6(1):8.
8. Hathie I, Skinner J, Bazin F. Irrigation, Sécurité Alimentaire et Pauvreté Leçons Tirées de Trois grands Barrages en Afrique de l'Ouest/Irrigation, Food Security and Poverty: Lessons Learned from Three Large Dams in West Africa. IIED Londres et UICN Ouagadougou. 2018;95.
9. Alessandro SD', Fall AA, Grey G, Simpkin S, Wane A. Senegal: Agricultural Sector Risk Assessment. Agriculture global practice technical assistance paper. 2015;
10. Government TU, Hunger G, Security Initiative F, States Agency International Development U. ETUDE DE LA CONSOMMATION DES CEREALES DE BASE AU SENEGAL FEED THE FUTURE SENEGAL-NAATAL MBAY.
11. Talla GUEYE M. Gestion intégrée des ravageurs de céréales et de légumineuses stockées au Sénégal par l'utilisation de substances issues de plantes.
12. Gay JP. Maïs, mythe et réalité. 1999 [cited 2023 Jan 9]; Available from: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2019146201>
13. Smith CWayne, Betrán J, Runge ECA (Edward CA). Corn : origin, history, technology, and production. 2004 [cited 2023 Jan 9];949. Available from: <https://www.wiley.com/en-us/Corn%3A+Origin%2C+History%2C+Technology%2C+and+Production-p-9780471411840>
14. Badiane D, Gueye MT, Coly EV, Faye O. Gestion intégrée des principaux ravageurs du cotonnier au Sénégal et en Afrique occidentale. *Int J Biol Chem Sci*. 2016 Feb 8;9(5):2654–67.
15. Origine et caractéristiques du maïs - SEMAE Pédagogie [Internet]. [cited 2023 Mar 29]. Available from: <https://www.semae-pedagogie.org/sujet/mais-origine-caracteristiques/>
16. Cruz JF, Troude F, Griffon D, Hebert JP. Conservation des grains en régions chaudes. Paris: Ministère de la coopération et du Développement; 1988.

17. Ukeh DA, Birkett MA, Bruce TJA, Allan EJ, Pickett JA, Jennifer Mordue A. Behavioural responses of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, to host (stored-grain) and non-host plant volatiles. *Pest Manag Sci*. 2010 Jan;66(1):44–50.
18. Waliyar F, Kumar PL, Traoré A, Ntare BR, Diarra B, Kodio O. Pre- and postharvest management of aflatoxin contamination in peanuts. In: *Mycotoxins: detection methods, management, public health and agricultural trade*. UK: CABI; 2008. p. 209–18.
19. Tapondjou LA, Adler C, Bouda H, Fontem DA. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *J Stored Prod Res*. 2002 Jan 1;38(4):395–402.
20. Kumar D, Kalita P. Reducing Postharvest Losses during Storage of Grain Crops to Strengthen Food Security in Developing Countries. *Foods*. 2017 Jan 15;6(1):8.
21. Info-Insectes - Phytophagie [Internet]. [cited 2023 Mar 29]. Available from: <http://ephytia.inra.fr/fr/C/7507/Info-Insectes-Phytophagie>
22. Carrieri R, Raimo F, Pentangelo A, Lahoz E. *Fusarium proliferatum* and *Fusarium tricinctum* as causal agents of pink rot of onion bulbs and the effect of soil solarization combined with compost amendment in controlling their infections in field. *Crop Protection*. 2013 Jan 1;43:31–7.
23. PLARRE R. An attempt to reconstruct the natural and cultural history of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *Eur J Entomol*. 2010 Feb 15;107(1):1–11.
24. FAO publications catalogue 2022. FAO publications catalogue 2022. FAO; 2022.
25. Nwosu LC. Impact of Age on the Biological Activities of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) Adults on Stored Maize: Implications for Food Security and Pest Management. *J Econ Entomol*. 2018 Sep 26;111(5):2454–60.
26. Patiño-Bayona WR, Nagles Galeano LJ, Bustos Cortes JJ, Delgado Ávila WA, Herrera Daza E, Suárez LEC, Prieto-Rodríguez JA, Patiño-Ladino OJ. Effects of Essential Oils from 24 Plant Species on *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera, Curculionidae). *Insects*. 2021 Jun 8;12(6):532.
27. Longstaff BC. Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): a critical review. *Protection Ecology*. 1981;3(2):83–130.
28. Mohamed El Bachir El Ibrahim BBA U. Étude de l'activité insecticide des huiles essentielles de *Thymus pallescens* (de Noé.) et *Cymbopogon citratus* (Stapf.) contre deux coléoptères de produits entreposés *Sitophilus zeamais* (Motschulsky.) et *Tribolium confusum* (Duval). 2018.
29. Rees David. *Insects of Stored Products*. 2004 [cited 2023 Mar 29];191. Available from: <https://www.perlego.com/book/1468779/insects-of-stored-products-pdf>
30. Manual de manejo poscosecha de granos a nivel rural - Conservacion y proteccion de los granos almacenados [Internet]. [cited 2023 Apr 12]. Available from: <https://www.fao.org/3/x5027s/x5027S0h.htm#V.%20Conservacion%20y%20proteccion%20de%20los%20granos%20almacenados>
31. Patiño Bayona WR, Plazas E, Bustos Cortes JJ, Rodríguez JAP, Patiño Ladino OJ. Essential Oils of Three *Hypericum* Species from Colombia: Chemical Composition, Insecticidal and Repellent Activity Against *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Records of Natural Products*. 2020 Nov 28;15(2):111–21.

32. Alleoni B, Ferreira W. Control of *Sitophilus zeamais* Mots., 1958 and *Sitophilus oryzae* (L., 1763) weevils (Coleoptera, Curculionidae) in stored rice grain (*Oryza sativa* L.) with insecticide pirimiphos methyl (Actellic 500 CE). Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection, ABRAPOS, Passo Fundo, RS, Brazil, 15-18 October 2006. 2006;1234–41.
33. MacLagan DS, Dunn E. XII.—The Experimental Analysis of the Growth of an Insect Population. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh [Internet]. 1936 Sep 15 [cited 2022 Dec 26];55:126–39. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifler/S0370164600014425/type/journal_article
34. Regnaults-Rogers Catherine PBVC. Biopesticides d'origine végétale - 2ème édition - Biobase, base de données documentaire en AB. 2ème édition. Paris, Lavoisier. Paris, Lavoisier; 2008.
35. Park IK, Lee SG, Choi DH, Park JD, Ahn YJ. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). J Stored Prod Res. 2003 Jan 1;39(4):375–84.
36. Liste des pesticides homologués par le CSP ver novembre 2017 - CSAN Nig [Internet]. [cited 2023 Mar 20]. Available from: <https://www.csan-niger.com/pesticides-homologues-novembre-2017.php>
37. Bhadriraju Subramanyam. Integrated Management of Insects in Stored Products. 1st Edition. Integrated Management of Insects in Stored Products. CRC Press; 2020.
38. El-Wakeil N, Gaafar N, Sallam A, Volkmar C. Side Effects of Insecticides on Natural Enemies and Possibility of Their Integration in Plant Protection Strategies. In: Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies. InTech; 2013.
39. Youssef LA. Relative resistance of some maize cultivars to *Sitophilus zeamais*. J Agrir; Sci Mansoura Univ. 2004;29(4):2117–25.
40. Pimentel MAG, Faroni LRD, Guedes RNC, Sousa AH, Tótola MR. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J Stored Prod Res. 2009 Jan 1;45(1):71–4.
41. Zettler JL, Arthur FH. Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. Crop Protection. 2000 Sep 12;19(8–10):577–82.
42. Genetic resources – CIMMYT [Internet]. [cited 2023 Mar 27]. Available from: <https://www.cimmyt.org/work/genetic-resources/>
43. Medugu, Tame MA. Influence of Morphological and Morphometric Characteristics of some Maize Varieties against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) Infestation in Northeastern Nigeria. Issue 5 Ser I. 2021;14:36–43.
44. Talla Guèye M, Seck D, Wathelet JP, Lognay G. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. Vol. 15, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2011.
45. Cissokho P, Gueye M, Sow E, Diarra K. Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. Int J Biol Chem Sci. 2015 Sep 9;9(3):1644.

46. Losic D, Korunic Z. CHAPTER 10. Diatomaceous Earth, A Natural Insecticide for Stored Grain Protection: Recent Progress and Perspectives. In: RSC Nanoscience and Nanotechnology. Royal Society of Chemistry; 2018. p. 219–47.
47. Korunic Z, Fields PG, Kovacs MIP, Noll JS, Lukow OM, Demianyk CJ, Shibley KJ. The effect of diatomaceous earth on grain quality. *Postharvest Biol Technol.* 1996 Dec;9(3):373–87.
48. Li Y, Agarwal M, Cao Y, Ren Y. Effect of synthetic amorphous silica powder on the cuticle of *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae* using hyperspectral imaging technique. *Pest Manag Sci.* 2020 Jan 5;76(1):314–23.
49. Essifi K, Hammani A, Berraaouan D, El Bachiri A, Fauconnier ML, Tahani A. Montmorillonite nanoclay based formulation for controlled and selective release of volatile essential oil compounds. In *Materials Chemistry and Physics.* 2022;277.
50. lutte biologique - LAROUSSE [Internet]. [cited 2023 Apr 18]. Available from: https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/lutte_biologique/187260
51. Njoroge PW, Opiyo SA. Antimicrobial Activity of Root Bark Extracts of *Rhus natalensis* and *Rhus ruspolii*. *Basic Sciences of Medicine* . 2019;8(2):23–8.
52. Gad HA, Ramadan GRM, El-Bakry AM, El-Sabroun AM, Abdelgaleil SAM. Monoterpenes: Promising natural products for public health insect control- A review. *Int J Trop Insect Sci.* 2022 Apr 1;42(2):1059–75.
53. Pillmoor JB, Wright K, Terry AS. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pestic Sci.* 1993 Jan 1;39(2):131–40.
54. Hu D, Coats J. Evaluation of the environmental fate of thymol and phenethyl propionate in the laboratory. *Pest Manag Sci.* 2008 Jul;64(7):775–9.
55. Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection.* 2000 Sep 12;19(8–10):603–8.
56. Opiyo SA, Njoroge PW, Ndirangu EG. A Review Pesticidal Activity of Essential Oils against *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granaries* and *Sitophilus Zeamais*. *IOSR Journal of Applied Chemistry* . 2022;15:39–51.
57. Loza-Tavera H. Monoterpenes in essential oils: Biosynthesis and properties. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 1999 [cited 2023 Jun 11];464:49–62. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-4729-7_5
58. R. E, N. S, G. W, F. A, A. G. Study of the Chemical Composition of Essential Oils by Gas Chromatography. In: *Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications.* InTech; 2012.
59. Yann-Olivier M, Hay M, Christine M, Rapporteurs R, Carlos M, Garcia V, Toulouse I, Luis M, Echeverri F, De Antioquia U, Mme M, Nepveu F, Toulouse U, Kaemmerer MMM. The simples complexity - Chemical and biological characterization of essential oils-hydrosols and essential oils-essential - oils combinations for the objectification of preservative effects of herbal medicines. [Toulouse]: Institut National Polytechnique de Toulouse ; 2015.
60. Keefover-Ring K, Thompson JD, Linhart YB. Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour Fragr J.* 2009 May;24(3):117–22.

61. Silva P da, PCO Trivelin, Guirado N, Ambrosano EJ, Mendes PCD. CONTROLE ALTERNATIVO DE *Sitophilus zeamais* MOTS., 1855 (COL.: CURCULIONIDAE) EM GRÃFOS DE MILHO. *Rev Bras de Agroecologia* . 2007;
62. Gomes AF, Almeida MP, Leite MF, Schwaiger S, Stuppner H, Halabalaki M, Amaral JG, David JM. Seasonal variation in the chemical composition of two chemotypes of *Lippia alba*. *Food Chem*. 2019 Feb 1;273:186–93.
63. Reis SL, Mantello AG, Rossete ÈA, Cardoso AM, Belebony RO. Insecticidal and repellent activity of typical monoterpenes from plant essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775). *BMC Proc*. 2014 Oct 1;8(S4):P115.
64. Karabörklü S, Ayvaz A. A comprehensive review of effective essential oil components in stored-product pest management. *Journal of Plant Diseases and Protection* 2023 130:3 [Internet]. 2023 Feb 5 [cited 2023 May 22];130(3):449–81. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s41348-023-00712-0>
65. Abdelgaleil SAM, Mohamed MIE, Shawir MS, Abou-Taleb HK. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *J Pest Sci* (2004). 2016 Mar 1;89(1):219–29.
66. Delobel, Alex. Post-récolte. Principes et applications en zone tropicale. Charles Verstraeten, editor. ESTEM-Aupelf, Paris; 1996.
67. Regnault-Roger C, Hamraoui A. Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*. 1994 Dec;13(8):624–8.
68. Accueil | REACH INFO [Internet]. [cited 2023 Apr 14]. Available from: <https://reach-info.ineris.fr/>
69. Day MD, Mcandrew TD. The Biology and Host Range of *Falconia intermedia* (Hemiptera: Miridae), a Potential Biological Control Agent for *Lantana camara* (Verbenaceae) in Australia. *Biocontrol Sci Technol*. 2003 Feb;13(1):13–22.
70. Hennebelle T, Sahpaz S, Joseph H, Bailleul F. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. *J Ethnopharmacol*. 2008 Mar 5;116(2):211–22.
71. Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Sánchez Mata D, Villar A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J Ethnopharmacol*. 2001 Aug 1;76(3):201–14.
72. Patiño-Bayona WR, Nagles Galeano LJ, Bustos Cortes JJ, Delgado Ávila WA, Herrera Daza E, Suárez LEC, Prieto-Rodríguez JA, Patiño-Ladino OJ. Effects of Essential Oils from 24 Plant Species on *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera, Curculionidae). *Insects*. 2021 Jun 8;12(6):532.
73. Peixoto MG, Bacci L, Fitzgerald Blank A, Araújo APA, Alves PB, Silva JHS, Santos AA, Oliveira AP, da Costa AS, Arrigoni-Blank M de F. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects. *Ind Crops Prod*. 2015 Sep 1;71:31–6.
74. Souza Silva PT de, Souza LM de, Morais MB de, Moraes MM de, Camara CAG da, Ulisses C. Effect of biotic elicitors on the physiology, redox system, and secondary metabolite composition of *Lippia alba* cultivated in vitro. *South African Journal of Botany*. 2022 Jul 1;147:415–24.
75. de Albuquerque Lima T, de Queiroz Baptista NM, de Oliveira APS, da Silva PA, de Gusmão NB, dos Santos Correia MT, Napoleão TH, da Silva MV, Paiva PMG. Insecticidal activity of a chemotype VI

- essential oil from *Lippia alba* leaves collected at Caatinga and the major compound (1,8-cineole) against *Nasutitermes corniger* and *Sitophilus zeamais*. *Pestic Biochem Physiol*. 2021 Aug 1;177:104901.
76. Tucker AO, DeBaggio T, DeBaggio Francesco, Tucker AO. *The encyclopedia of herbs : a comprehensive reference to herbs of flavor and fragrance*. Timber Press; 2009. 604 p.
 77. Maes C, Bouquillon S, Fauconnier ML. Encapsulation of Essential Oils for the Development of Biosourced Pesticides with Controlled Release: A Review. *Molecules*. 2019;24(14).
 78. Rodríguez J, Martín MJ, Ruiz MA, Clares B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*. 2016 May 1;83:41–59.
 79. Berraaouan D, Essifi K, Addi M, Hano C, Fauconnier ML, Tahani A. Hybrid Microcapsules for Encapsulation and Controlled Release of Rosemary Essential Oil. *Polymers (Basel)*. 2023 Feb 7;15(4):823.
 80. Maes C. Encapsulation innovante d'huiles essentielles en vue du développement de pesticides biosourcés à relargage contrôlé. <http://www.theses.fr>. [Reims et Liege]: Université de Liège et Université de Reims;
 81. M. EM, S. S, A. EB, J. PW, A. T. Adsorption of essential oil components of *Lavandula angustifolia* on sodium modified bentonite from Nador (North-East Morocco). *Afr J Biotechnol*. 2014 Aug 13;13(33):3413–25.
 82. Mbouga N, Goletti M. Formulation d'insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *Xylopia aethiopica* et de *Ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées. [Montpellier]: Montpellier, école nationale supérieure de chimie ; 2012.
 83. Fût inox 30L avec robinet Superfustinox [Internet]. [cited 2023 Apr 17]. Available from: <https://madeinolive.com/fut-inox/fut-inox-30l-avec-robinet-anti-goutte-superfustinox>
 84. Shukla R, Singh P, Prakash B, Kumar A, Mishra PK, Dubey NK. Efficacy of essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown and *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet and their major constituents on mortality, oviposition and feeding behaviour of pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. *J Sci Food Agric*. 2011 Sep 1;91(12):n/a-n/a.
 85. Kéita SM, Vincent C, Schmit JP, Arnason JT, Bélanger A. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae]. *J Stored Prod Res*. 2001 Oct 1;37(4):339–49.
 86. Abbott WS. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *J Econ Entomol*. 1925 Apr 1;18(2):265–7.
 87. Peixoto MG, Bacci L, Fitzgerald Blank A, Araújo APA, Alves PB, Silva JHS, Santos AA, Oliveira AP, da Costa AS, Arrigoni-Blank M de F. Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects. *Ind Crops Prod*. 2015 Sep 1;71:31–6.
 88. Heuskin S, Lognay G. Contribution to the study of semiochemical slow-release formulations as biological control devices. *Journal of Environment and Ecology*. 2012;
 89. Hennebelle T, Sähpaz S, Dermont C, Joseph H, Bailleul F. The Essential Oil of *Lippia alba*: Analysis of Samples from French Overseas Departments and Review of Previous Works. *Chem Biodivers*. 2006 Oct;3(10):1116–25.

90. Liu L, Song G, Hu Y. GC-MS analysis of the essential oils of *Piper nigrum* L. and *Piper longum* L. *Chromatographia*. 2007 Nov 26;66(9–10):785–90.
91. Kotowska U, Żalikowski M, Isidorov VA. HS-SPME/GC-MS analysis of volatile and semi-volatile organic compounds emitted from municipal sewage sludge. *Environ Monit Assess*. 2012 Jun 18;184(5):2893–907.
92. Gkinis G, Tzakou O, Iliopoulou D, Roussis V. Chemical Composition and Biological Activity of *Nepeta parnassica* Oils and Isolated Nepetalactones. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2003 Oct 1;58(9–10):681–6.
93. BATTERY RG, BLACK DR, P. KEALY M. Volatile oxygenated constituents of hops. Identification by combined gas chromatography and mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1965;18(C):399–402.
94. Zouari N, Ayadi I, Fakhfakh N, Rebai A, Zouari S. Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic species. *Lipids Health Dis*. 2012 Feb 20;11(1):1–12.
95. Hazzit M, Baaliouamer A, Faleiro ML, Miguel MG. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J Agric Food Chem*. 2006 Aug 23;54(17):6314–21.
96. Mbougua MGN. Formulation d'insecticides en poudre parsentielles de *Xylopia aethiopica* et de *Ocimum gratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées adsorption des huiles es. <http://www.theses.fr> [Internet]. 2012 Jun 18 [cited 2023 Apr 3]; Available from: <http://www.theses.fr/2012ENCM0005>
97. Rojht H, Athanassiou C, Vayias B, Kavallieratos N, Tomanović Ž, Vidrih M, Kos K, Trdan S. The effect of diatomaceous earth of different origin, temperature and relative humidity against adults of rice weevil (*Sitophilus oryzae* [L.], Coleoptera, Curculionidae) in stored wheat. *Acta Agric Slov*. 2010 Jan 1;95(1):13–20.
98. Essifi K, Brahmi M, Berraouan D, Amrani A, El Bachiri A, Fauconnier ML, Tahani A. Development and characterization of alginate@montmorillonite hybrid microcapsules for encapsulation and controlled release of quercetin: Effect of clay type. [cited 2023 Jun 2]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.242>
99. Gueye MT, Seck D, Ba S, Hell K, Sembene M, Wathelet JP, Lognay G. Insecticidal activity of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam ex Poir. on *Caryedon serratus* (Ol.) pest of stored groundnuts. *Afr J Agric Res*. 2011 Dec 12;6(30):6348–53.
100. McDonald Et Al, 1970 PDF | PDF | Beetle | Pesticide [Internet]. [cited 2023 Jun 11]. Available from: <https://fr.scribd.com/document/466076246/McDonald-et-al-1970-pdf>

7. ANNEXES

7.1 FIGURES COMPLÉMENTAIRES

Tableau 15 : Classement des pourcentages de répulsion selon Mc Donald et al. (1970) [100]

Classe	Intervalle de répulsion	Propriétés
0	$PR \leq 0,1 \%$	N'est pas répulsif
I	$0,1 \% < PR \leq 20 \%$	Très faiblement répulsif
II	$20 \% < PR \leq 40 \%$	Faiblement répulsif
III	$40 \% < PR \leq 60 \%$	Modérément répulsif
IV	$60 \% < PR \leq 80 \%$	Répulsif
V	$80 \% < PR \leq 100 \%$	Très répulsif

Tableau 16: Composition de l'argile locale 1 analysée par Diffraction aux rayons X

E1	d(Å)	FC	I	Ic	%	Composition chimique	% SiO ₂
Calcite	3,03	1,65	6730	11104,5	26	CaCO ₃	
Dolomite	2,9	1,53	2700	4131	10	CaMg(CO ₃) ₂	
Quartz	3,34	1	2370	2370	6	SiO ₂	6
FK	3,23	4,3	1250	5375	13	C ₆ F ₁₂ O	
Cristobalite	4,13	9	520	4680	11	SiO ₂	11
Palygorskite	10,4	9,2	1150	10580	25	2Si ₄ O ₁₀ 4H ₂ O	
Sepiolite	12,6	2	800	1600	4	Mg ₄ Si ₆ O ₁₅ (OH) ₂ 6H ₂ O	
Smectite	15	3	700	2100	5	(Na, Ca) _{0,3} (Al, Mg) ₂ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂ nH ₂ O	
Total				41940,5	100		17

Tableau 17: Composition de l'argile locale 2 analysée par Diffraction aux rayons X

E1	d(Å)	FC	I	Ic	%	Composition chimique	% SiO ₂
Quartz	3,34	1	2700	2700	2	SiO ₂	2
Cristobalite	4,13	9	5000	45000	39	SiO ₂	39
Siderite	2,79	1,15	540	621	1	FeCO ₃	
Hematite	2,69	3,33	480	1598,4	1	Fe ₂ O ₃	
Palygorskite	10,4	9,2	5190	47748	42	2Si ₄ O ₁₀ 4H ₂ O	
Sepiolite	12,6	2	5300	10600	9	Mg ₄ Si ₆ O ₁₅ (OH) ₂ 6H ₂ O	
Smectite	15	3	2000	6000	5	(Na, Ca) _{0,3} (Al, Mg) ₂ Si ₄ O ₁₀ (OH) ₂ nH ₂ O	
Total				114267,4	100		41

7.2 RENDEMENT D'EXTRACTION

Tableau 18: Rendements d'extractions

n° extraction	masse mf (g)	Humidité moyenne (n=3)	volume HE (mL)	m HE (g)	rendement (%)
1	1005	19,3	14	12,012	0,965
2	930	13,9	15	12,87	1,19
3	1000	15,7	14	12,012	1,01

7.3 COMPOSITIONS DE L'HUILE ESSENTIELLE DE L.ALBA

Tableau 19 : Composition chimique de L.alba juillet 2022 analysée par Ségolène Scrurs et Annaëlle Postiaux

Numéro du pic – Temps de rétention minimum	Aire du pic	Pourcentage relatif	Composé identifié
1 10.286	41583069	10.874	1-Phellandrene
2 10.799	13116110	3.430	Benzene
3 11.008	170705520	44.64	Limonene
4 11.404	6374592	1.667	1,3,6-Octatriene
5 16.234	30772599	8.047	Z-Citral
6 16.934	39247751	10.264	2,6-Octadienal
7 19.090	7170621	1.875	Naphtalene
8 20.277	10049585	2.628	Caryophyllene

9 21.566	12995874	3.399	Germacrene-D
10 50.112	50374933	13.174	Spiro[cyclopenta[c]pyran-7(1H),2'-[1,3]dioxane]-7a(4aH)-carboxylic acid 1-oxo-, methyl ester, cis-

Tableau 20: Composition chimique de *L.alba* juillet 2021 analysée par Florian Martini et Sarah Suffys

Temps de rétention (min)	Nom du composé	Aire	Pourcentage relatif (%)
7,449	Alpha-pinene	2402279	1.09
7,855	Camphene	213993	0.10
9.541	Phellandrene	18973744	8.63
10.309	Limonene	183510186	83.45
19.356	Alpha-cubebene	224713	0.10
20.042	Alpha-copaene	1038007	0.47
20.298	Beta-bourbonene	309132	0.14
20.428	beta-cubebene	871352	0.40
21.162	Caryophyllene	7287629	3.31
22.051	Alpha-humulene	189226	0.09
22.215	Alloaromandrene	656864	0.30
22.727	Germacrene	3583419	1.63
23.804	Delta-cadinene	178898	0.08
25.2	Caryophyllene oxide	476911	0.22
Total		219916353	100

Tableau 21: : Composition chimique de *L.alba* juillet 2021 analysée par Soleiman Abir et Thomas De Zutter

Numéro de pics	Composition	Qualité	Pourcentage (%)	Temps de rétention (min)	Indice Kovats (exp)	Indice Kovats (Référence) majoritaire
1	alpha-thujene	95	0,28	6,9856	925	
2	.alpha.-Pinene	96	1,34	7,1449	931	
3	Camphene	95	0,11	7,5368	945	
4	2-.BETA.-PINENE	95	0,23	8,2373	971	
5	6-METHYL-5-HEPTEN-2-ONE	96	1,99	8,6665	987	
6	.beta.-Myrcene	96	1,72	8,7583	991	
7	l-Phellandrene	95	12,72	9,1302	1004	1005
8	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	97	7,20	9,7195	1024	
9	dl-Limonene	99	42,74	9,9272	1031	1031
10	.BETA. OCIMENE Y	98	2,83	10,4102	1048	
11	Styrene, p,.alpha.-dimethyl-	97	0,60	11,584	1088	
12	LINALOOL L	97	0,62	11,9124	1100	
13	2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans- / p-Menth-2-en-1-ol, stereoisomer	91	0,29	12,5114	1120	
14	Isopulegone	65	0,87	14,3082	1183	
15	Myrtenal	95	0,11	14,6755	1195	
16	A-PHELLANDRENE EPOXIDE	96	0,42	14,8637	1202	
17	Z-Citral	97	5,78	15,994	1243	
18	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-	96	7,32	16,8296	1273	
19	PIPERITENONE OXIDE	99	1,09	19,3703	1367	
20	.alpha.-Copaene	99	0,41	19,5973	1376	
21	GERANYL ACETATE	83	0,36	19,8099	1384	
22	.beta.-Cubebene	98	0,40	19,9741	1390	
23	Caryophyllene	99	3,13	20,7324	1420	
24	.alpha.-Humulene	98	0,16	21,5872	1454	
25	trans-.beta.-Farnesene / (E)-.beta.-farnesene	98	0,62	21,6598	1457	
26	1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a.alpha.,	99	0,34	21,7709	1461	
27	GERMACRENE-D	98	5,04	22,2974	1482	
28	delta-cadinene	99	0,72	23,3118	1524	
29	CIS-ALPHA-BISABOLENE	98	0,36	23,761	1543	
30	(-)-Caryophyllene oxide	91	0,19	24,7464	1585	

Tableau 22: Taux de mortalité par fumigation de *Sitophilus zeamais* en fonction du temps selon une concentration

Dose ($\mu\text{L/mL}$ Aire)	Temps (h)					
	0	24	48	72	96	120
0	0 \pm 0	6 + 8,94	6 \pm 13,04	6 \pm 5,48	8 \pm 8,37	14 \pm 11,40
0,1	0 \pm 0	2,13 \pm 13,04	40,43 \pm 8,94	76,6 \pm 8,37	82,61 \pm 8,94	95,35 \pm 5,48
0,15	0 \pm 0	11,35 \pm 5,77	53,9 \pm 19,49	92,91 \pm 5,77	100 \pm 0	100 \pm 0
0,2	0 \pm 0	26 \pm 17,03	72,34 \pm 15,28	97,87 \pm 4,47	100 \pm 0	100 \pm 0
0,25	0 \pm 0	31,91 \pm 5,48	91,49 \pm 10,95	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0
Témoin	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 5,5	0 \pm 5,5

Tableau 23: Taux de mortalité par contact de *Sitophilus zeamais* en fonction du temps selon une concentration

Dose ($\mu\text{L/L}$ Aire)	Temps (h)		
	24	48	72
0	$2,5 \pm 4,5$	$2 \pm 4,5$	$4 \pm 5,5$
4	$12,3 \pm 9,4$	$35,1 \pm 8$	$64,6 \pm 21,9$
8	$47,8 \pm 15,2$	$72 \pm 11,4$	$91,7 \pm 8,4$
12	$79,5 \pm 10$	$75,5 \pm 39,1$	$94,8 \pm 5,5$
16	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
20	$97,9 \pm 0$	100 ± 0	100 ± 0

Tableau 24: Taux de mortalité par contact d'argiles de *Sitophilus zeamais* en fonction du temps selon une concentration

	Temps (h)					
	0	24	48	72	96	120
Argile 1	0 ± 0	10 ± 10	$10 \pm 7,1$	$28 \pm 20,5$	$72,9 \pm 24,1$	$14,6 \pm 8,4$
Argile 2	0 ± 0	$8 \pm 8,4$	$14 \pm 11,4$	$32 \pm 27,7$	$27,1 \pm 14,1$	$33,3 \pm 24,5$
Montmorillonite	0 ± 0	$66 \pm 37,1$	$92 \pm 8,4$	$98 \pm 4,5$	100 ± 0	100 ± 0

Tableau 25: Taux de mortalité par contact de la formulation entre une argile et l'huile essentielle de *L.alba* de *Sitophilus zeamais* en fonction du temps selon une concentration

Doses ($\mu\text{L/L}$ Aire)	Formulations	Temps (h)				
		24	48	72	96	120
52,6	Arg1/HE	6,1 \pm 4,5	34,7 \pm 19,5	50 \pm 21,7	60,4 \pm 41,5	77,1 \pm 24,9
	Arg2/HE	4,1 \pm 8,9	42,9 \pm 11,4	45,8 \pm 48,7	37,5 \pm 46,4	45,8 \pm 35,6
	Montmorillonite/HE	61 \pm 30,6	93,7 \pm 9,1	97,7 \pm 5	100 \pm 0	100 \pm 0
	HE	93,9 \pm 8,9	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0
	Témoin	2 \pm 4,5	2 \pm 4,5	4 \pm 5,5	4 \pm 5,5	4 \pm 5,5
Doses ($\mu\text{L/L}$ Aire)	Formulations	Temps (h)				
		24	48	72	96	120
52,6	Arg1/HE	6,1 \pm 4,5	34,7 \pm 19,5	50 \pm 21,7	60,4 \pm 41,5	77,1 \pm 24,9
	Arg2/HE	4,1 \pm 8,9	42,9 \pm 11,4	45,8 \pm 48,7	37,5 \pm 46,4	45,8 \pm 35,6
	Montmorillonite/HE	61 \pm 30,6	93,7 \pm 9,1	97,7 \pm 5	100 \pm 0	100 \pm 0
	HE	93,9 \pm 8,9	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0
	Témoin	2 \pm 4,5	2 \pm 4,5	4 \pm 5,5	4 \pm 5,5	4 \pm 5,5

7.4 TESTS STATISTIQUES

Tableau 26: Analyse des moyennes des échantillons n'ayant pas reçu de traitement avec les échantillons qui ont reçu un traitement par fumigation. Le test statistique appliqué est le test t utilisant la distribution de student

Fumigation									
0,1									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 0,1 µ/ml	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,99514	6	5,96	0,04	6,368	0,006281	8	0,99514
48h	Yes	0,00919	6	40,42	-34,42	10,09	3,412	8	0,0183
72h	Yes	<0,00001	6	76,6	-70,6	4,675	15,1	8	<0,00001
96h	Yes	<0,00001	8	82,6	-74,6	5,728	13,02	8	<0,00001
120h	Yes	<0,00001	14	95,36	-81,36	5,837	13,94	8	<0,00001
0,15									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 0,15 µ/ml	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,21499	6	12,06	-6,06	4,5	1,347	8	0,21499
48h	Yes	0,00008	6	54,52	-48,52	6,549	7,409	8	0,00015
72h	Yes	<0,00001	6	93,64	-87,64	3,57	24,55	8	<0,00001
96h	Yes	<0,00001	8	100	-92	3,742	24,59	8	<0,00001
120h	Yes	<0,00001	14	100	-86	5,099	16,87	8	<0,00001
0,2									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 0,2 µ/ml	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,05749	6	26	-20	9,023	2,217	8	0,05749
48h	Yes	0,00025	6	72,34	-66,34	10,65	6,228	8	0,0005
72h	Yes	<0,00001	6	97,88	-91,88	3,24	28,36	8	<0,00001
96h	Yes	<0,00001	8	100	-92	3,742	24,59	8	<0,00001
120h	Yes	<0,00001	14	100	-86	5,099	16,87	8	<0,00001
0,25									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 0,25 µ/ml	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	0,00063	6	31,92	-25,92	4,782	5,42	8	0,00063
48h	Yes	<0,00001	6	91,48	-85,48	6,574	13	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	6	100	-94	2,449	38,38	8	<0,00001
96h	Yes	<0,00001	8	100	-92	3,742	24,59	8	<0,00001
120h	Yes	<0,00001	14	100	-86	5,099	16,87	8	<0,00001

Tableau 27 :Analyse des moyennes des échantillons ayant été traité par l'huile essentielle seule avec les échantillons qui ont reçu été traité par la formulation . Le test statistique appliqué est le test t utilisant la distribution de student

Formulation / HE									
Argile1HE / 20 µL									
	Significant?	P value	Mean of Arg1/HE	Mean of 20µL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	<0,00001	6,528	97,96	-91,43	2,612	35	8	<0,00001
48h	Yes	0,00008	34,69	100	-65,31	8,896	7,341	8	0,00016
72h	Yes	0,00112	50	100	-50	10,1	4,951	8	0,00112
Argile2HE / 20 µL									
	Significant?	P value	Mean of Arg2/HE	Mean of 20µL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	<0,00001	5,306	97,96	-92,65	4,162	22,26	8	<0,00001
48h	Yes	<0,00001	42,86	100	-57,14	5,202	10,98	8	<0,00001
72h	Yes	0,04323	46,67	100	-53,33	22,23	2,399	8	0,04323
MonthHE / 20 µL									
	Significant?	P value	Mean of Mont/HE	Mean of 20µL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,03085	61,03	97,96	-36,93	14,12	2,616	8	0,08973
48h	No	0,16403	93,65	100	-6,35	4,145	1,532	8	0,30115
72h	No	0,34659	97,69	100	-2,314	2,314	1	8	0,34659

Tableau 28: Analyse des moyennes des échantillons n'ayant pas reçu de traitement avec les échantillons qui ont reçu un traitement par contact. Le test statistique appliqué est le test t

Contact									
0 µL/mL									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 0 µL/mL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	0,03577	2	13,11	-11,11	4,406	2,521	8	0,03577
48h	Yes	0,00004	2	35,16	-33,16	4,153	7,984	8	0,00013
72h	Yes	0,00042	4	64,58	-60,58	10,5	5,77	8	0,00084
4 µL/mL									
	Significant?	P value	Mean of 0	µL/mL	Difference	difference	t ratio	df	Value
24h	Yes	0,00022	2	48,07	-46,07	7,229	6,373	8	0,00022
48h	Yes	<0,00001	2	72	-70	6,16	11,36	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	4	91,68	-87,68	4,598	19,07	8	<0,00001
8 µL/mL									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 8 µL/mL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	<0,00001	2	79,59	-77,59	4,983	15,57	8	<0,00001
48h	Yes	0,00346	2	75,52	-73,52	17,95	4,095	8	0,00346
72h	Yes	<0,00001	4	93,76	-89,76	3,534	25,4	8	<0,00001
12 µL/mL									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 12 µL/mL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	<0,00001	2	100	-98	2	49	8	<0,00001
48h	Yes	<0,00001	2	100	-98	2	49	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001
16 µL/mL									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of 20 µL/mL	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	<0,00001	2	97,96	-95,96	2,857	33,59	8	<0,00001
48h	Yes	<0,00001	2	100	-98	2	49	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001
20 µL/mL									
	Significant?	P value	Mean of 0	Mean of C5	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	<0,00001	2	97,96	-95,96	2,857	33,59	8	<0,00001
48h	Yes	<0,00001	2	100	-98	2	49	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001

Tableau 29: Analyse des moyennes des échantillons n'ayant pas reçu de traitement avec les échantillons qui ont reçu un traitement de la formulation entre une argile de l'huile essentielle par contact. Le test statistique appliqué est le test t

Formulation Arg/HE									
Argile 1/HE									
	Significant?	P value	Mean of Témoin	Mean of Group Arg1/HE	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,1175	2	6,528	-4,528	2,581	1,754	8	0,1175
48h	Yes	0,00713	2	34,69	-32,69	9,118	3,585	8	0,02822
72h	Yes	0,00221	4	50	-46	10,39	4,427	8	0,01098
96h	Yes	0,0159	4	61,25	-57,25	18,79	3,047	8	0,04693
120h	Yes	0,0159	4	61,25	-57,25	18,79	3,047	8	0,04693
Argile 2/HE									
	Significant?	P value	Mean of Témoin	Mean of Group Arg2/HE	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,44791	2	5,306	-3,306	4,143	0,798	8	0,44791
48h	No	0,10984	2	42,86	-40,86	5,574	7,331	8	0,41333
72h	No	0,09286	4	46,67	-42,67	22,36	1,908	8	0,32282
96h	No	0,13174	4	39,17	-35,17	20,95	1,679	8	0,34543
120h	No	0,13174	4	39,17	-35,17	20,95	1,679	8	0,34543
Montmorillonite/HE									
	Significant?	P value	Mean of Témoin	Mean of Group Mont/HE	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	0,00307	2	61,03	-59,03	14,11	4,183	8	0,00307
48h	Yes	<0,00001	2	93,65	-91,65	4,602	19,92	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	4	97,69	-93,69	3,37	27,8	8	<0,00001
96h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001
120h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001

Tableau 30: Analyse des moyennes des échantillons traités avec les différents argiles avec les moyenne n'ayant pas été traités e par contact. Le test statistique appliqué est le test t

Argiles seules									
Argile 1									
	Significant?	P value	Mean of Témoin	Mean of Group Arg1/HE	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,05577	0	10	-10	4,472	2,236	8	0,09696
48h	No	0,01335	0	10	-10	3,162	3,162	8	0,05234
72h	No	0,0157	0	28	-28	9,165	3,055	8	0,05234
96h	Yes	0,00032	4	72,92	-68,92	11,49	6	8	0,00162
120h	No	0,04972	4	14,62	-10,62	4,598	2,31	8	0,09696
Argile 2									
	Significant?	P value	Mean of Témoin	Mean of Group Arg1/HE	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,06497	0	8	-8	3,742	2,138	8	0,09716
48h	No	0,02523	0	14	-14	5,099	2,746	8	0,09716
72h	No	0,03269	0	32	-32	12,41	2,579	8	0,09716
96h	No	0,011	4	27,1	-23,1	7,019	3,291	8	0,05382
120h	No	0,02831	4	33,34	-29,34	10,98	2,671	8	0,09716
Montmorillonite									
	Significant?	P value	Mean of Témoin	Group Arg1/HE	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	Yes	0,0041	0	66	-66	16,61	3,973	8	0,0041
48h	Yes	<0,00001	0	92	-92	3,742	24,59	8	<0,00001
72h	Yes	<0,00001	0	98	-98	2	49	8	<0,00001
96h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001
120h	Yes	<0,00001	4	100	-96	2,449	39,19	8	<0,00001

Tableau 31: Analyse des moyennes des échantillons ayant été traités avec l'argile seule avec les moyennes des échantillons ayant été traités avec la formulation.. Le test statistique appliqué est le test t

Argile / Formulation									
Argile 1/ Argile1HE									
	Significant?	P value	Mean of Argile 1	Mean of Group B	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,48661	10	6,528	3,472	4,761	0,7293	8	0,73643
48h	No	0,03087	10	34,69	-24,69	9,441	2,615	8	0,14512
72h	No	0,14537	28	50	-22	13,64	1,613	8	0,37578
96h	No	0,60615	72,92	61,25	11,67	21,75	0,5366	8	0,73643
120h	No	0,03993	14,62	61,25	-46,63	19,03	2,45	8	0,15039
Argile 2/ Argile2HE									
	Significant?	P value	Mean of Argile 2	Mean of Group B	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,61921	8	5,306	2,694	5,212	0,5169	8	0,96901
48h	No	0,41776	14	42,86	-28,86	7,285	3,962	8	0,34701
72h	No	0,58042	32	46,67	-14,67	25,46	0,5761	8	0,96901
96h	No	0,59539	27,1	39,17	-12,07	21,82	0,553	8	0,96901
120h	No	0,80964	33,34	39,17	-5,826	23,4	0,249	8	0,96901
Mont/ MonthE									
	Significant?	P value	Mean of Montmorillonite	Mean of Group B	Difference	SE of difference	t ratio	df	Adjusted P Value
24h	No	0,82471	66	61,03	4,968	21,71	0,2289	8	0,98863
48h	No	0,77513	92	93,65	-1,65	5,584	0,2955	8	0,98863
72h	No	0,92076	98	97,69	0,314	3,059	0,1027	8	0,98863
96h			100	100	0	0			
120h			100	100	0	0			

Tableau 32: Abondance du limonène extrait par de l'hexane sur les différentes argiles testées lors de l'étude

		Après 0h			
		Abondance	Concentration (µL/mL)	Moyenne	SD
Argile 1	A1	8229968,4	0,356	0,326	0,029
	A2	5940724,9	0,299		
	A3	6951132,8	0,324		
Argile 2	B1	7013898,1	0,325	0,321	0,006
	B2	6938901,1	0,323		
	B3	6551510,3	0,314		
Montmorillonite	C1	3431304,8	0,236	0,236	0,002
	C2	3334648,6	0,233		
	C3	3506024,9	0,238		