



Efficacité insecticide des extraits de la pelure des fruits de *Citrus sinensis* (L.) vis-à-vis de *Sitophilus zeamais* (Motsch.), ravageur des grains de maïs (*Zea mays* L.) en stock à l'Extrême-Nord du Cameroun

Sylvain Bayang Wangkaqué^{*1}, Léonard Simon Ngamo Tinkeu², Augustin Goudoum³

⁽¹⁾Université de Maroua. Département des Sciences Biologiques. B.P. 46 Maroua (Cameroun).

E-mail: bayangsylvain9@gmail.com

⁽²⁾Université de Ngaoundéré. Département des Sciences Biologiques. B.P. 454 Ngaoundéré (Cameroun)

⁽³⁾Université de Maroua. École Nationale Supérieure d'Ingénieurs. Département de l'Agriculture, de l'Élevage et des Produits Dérivés. B.P. 58 Maroua (Cameroun)

Reçu le 13 juillet 2024, accepté le 19 novembre 2024, publié en ligne le 28 décembre 2024

DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/rafea.v7i4.12>

RESUME

Description du sujet. L'usage des insecticides de synthèse demeure la méthode de lutte la plus pratiquée contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Cependant, leur utilisation de façon répétitive et à concentration élevée, présente des effets néfastes tant pour les consommateurs que pour l'environnement et la biodiversité.

Objectif. Évaluer l'efficacité de la poudre de pelure des fruits de *Citrus sinensis* obtenu par le procédé de tamisage différentiel sur le contrôle de *Sitophilus zeamais*.

Méthodes. Les extraits poudreux obtenus après tamisage successif d'une masse de poudre avec des tamis de mailles décroissantes superposés, ont été utilisés pour déterminer le screening phytochimique, le dosage des métabolites secondaires et l'activité insecticide de chaque fraction formulée sur le cycle évolutif du ravageur.

Résultats. Les résultats de la caractérisation qualitative et quantitative des métabolites secondaires montrent que les teneurs varient de 22,44 à 38,31 mg EAG/g MS pour le polyphénol, de 4,45 à 5,72 mg ER/g MS pour les flavonoïdes, de 11,25 à 14,23 mg EC/g MS pour les tanins, de 2,15 à 11,28 mg ECG/g MS pour les alcaloïdes et de 0,22 à 0,58 mg/g de poudres pour les saponines. L'activité insecticide de chaque fraction à différentes doses (3; 5 et 8 g/kg), a induit une mortalité supérieure que celle du témoin sans poudre. La dose 8 g/kg de la fraction 200 µm, a induit un taux de mortalité le plus élevé durant toute les périodes de traitements entre les jours 5 (95,55 ± 4,71 %) et 35 (94,95 ± 5,85 %), comparé au taux de mortalité (100 %) provoqué par Antouka super insecticide de référence.

Conclusion. Cette étude suggère la possibilité d'utiliser la poudre de pelure de *C. sinensis* comme une alternative aux insecticides chimiques dans la lutte contre le ravageur *Sitophilus zeamais*.

Mots-clés. *Citrus sinensis*, *Sitophilus zeamais*, denrées stockées, insecticides, Cameroun.

ABSTRACT

Insecticidal effectiveness of extracts from the peel of the fruits of *Citrus sinensis* (L.) against *Sitophilus zeamais* (Motsch.), pest of corn grains (*Zea mays* L.) in stock in the Far North of Cameroon

Description of the Subject. The use of synthetic insecticides remains the most commonly practiced method for controlling pests of stored food products. However, their repetitive use at high concentrations has detrimental effects on both consumers and the environment, as well as on biodiversity.

Objective. To evaluate the effectiveness of *Citrus sinensis* fruit peel powder, obtained through differential sieving, in controlling *Sitophilus zeamais*.

Methods. Powder extracts obtained after successive sieving of a mass of powder through a series of progressively finer sieves were used to determine phytochemical screening, secondary metabolite quantification, and the insecticidal activity of each formulated fraction on the pest's developmental cycle.

Results. Qualitative and quantitative characterisation of secondary metabolites shows that their concentrations vary from 22.44 to 38.31 mg EAG/g dry matter for polyphenols, 4.45 to 5.72 mg ER/g dry matter for flavonoids, 11.25 to 14.23 mg EC/g dry matter for tannins, 2.15 to 11.28 mg ECG/g dry matter for alkaloids, and 0.22 to 0.58 mg/g of powder for saponins. The insecticidal activity of each fraction at different doses (3, 5, and 8 g/kg) resulted in higher mortality rates compared to the control without powder. The 8 g/kg dose of the 200 μ m fraction produced the highest mortality rate throughout the treatment periods, between days 5 ($95.55 \pm 4.71\%$) and 35 ($94.95 \pm 5.85\%$), compared to the mortality rate (100 %) caused by the reference Antouka super insecticide.

Conclusion. This study suggests the potential of using *C. sinensis* peel powder as an alternative to chemical insecticides in the control of *S. zeamais*.

Keywords. *Citrus sinensis*, *Sitophilus zeamais*, stored products, insecticides, Cameroon.

1. INTRODUCTION

Les populations du monde et particulièrement celles de l'Afrique sont de plus en plus confrontées à des difficultés parmi lesquelles les pertes post-récoltes dues aux ravageurs qui atteignent 50 % de la récolte en six mois de stockage, entraînant la perte de plusieurs milliards de dollars (Nukenine, 2010; Tian *et al.*, 2023). Ces pertes dues aux insectes nuisibles durant le stockage des grains ne sauraient être tolérées au vu de l'importance que revêtent les céréales, avec le rôle central du maïs comme aliment de base en Afrique subsaharienne (Macauley & Ramadjita, 2015).

Ainsi, la population utilise principalement les produits chimiques de synthèse pour réduire la pression des bio-agresseurs lors de la conservation post-récolte des denrées alimentaires (Goudoum *et al.*, 2010; Cruz *et al.*, 2016). Cependant, l'application de façon répétitive et à concentration élevée de ces produits en agriculture est à l'origine de la pollution des sols et des eaux, du développement de résistances aux mauvaises herbes, aux insectes et aux pathogènes, ainsi que la destruction de nombreux organismes utiles dont les insectes pollinisateurs (FAO, 2018; Boedeker *et al.*, 2020; Zaki *et al.*, 2020). Ces constats vis-à-vis de l'utilisation des produits chimiques ont conduit à un regain d'intérêt dans la recherche d'alternatives prometteuses des biomolécules actives non toxiques des plantes aromatiques. Ces dernières présentent un effet insecticide et sont biodégradables, ne laissent pas de résidus nocifs qui pourraient entraîner la pollution du sol, de l'air et de l'eau (Goudoum, *et al.*, 2013; Zaki *et al.*, 2020; Nasra Zohry *et al.*, 2020).

En effet, la demande en biopesticides est de plus en plus forte compte tenu de la conjoncture actuelle visant à éliminer les produits chimiques conventionnels considérés comme polluants et impactant sur la santé humaine (Regnault-Roger, 2002). À cet égard, plusieurs travaux ont montré que les poudres et huiles essentielles des plantes aromatiques sont utilisées pour protéger les grains

stockés de maïs (*Zea. mays* L.) contre les attaques de *Sitophilus zeamais* (Goudoum *et al.*, 2013; Edu *et al.*, 2019). Ces plantes produisent des substances actives qui sont le plus souvent des métabolites secondaires ayant des propriétés insecticides. Ces substances sont obtenues à partir des différentes parties de la plante telles que les fleurs, les feuilles, les écorces, la sève, le bois, les racines, les gousses, les bulbes, les rhizomes, les fruits et les graines à l'état sec ou frais (Tamgno & Ngamo, 2013; Werrie *et al.*, 2020).

La difficulté à extraire les principes actifs des plantes constitue de ce fait une contrainte majeure de les séparer de leur matrice végétale d'origine. Plusieurs procédés ont été décrits pouvant être utilisés pour extraire/séparer les principes actifs des plantes à savoir l'utilisation des solvants organiques. Ces derniers ont un impact sur les molécules bioactives, sur l'environnement et sur la santé des consommateurs (FAO, 2021; Baudelaire, 2013). D'où la nécessité de trouver une méthode aisée d'extraction de ces métabolites secondaires. Il s'agit de l'extraction par voie sèche PTC (Pulvérisation Tamisage- différentielle Contrôlé). Cette technique n'utilise pas de solvant, fournit une gamme élargie de principes actifs et permet de séparer les particules en fonction de leur taille granulométrique (Zaiter *et al.*, 2016). En effet, la poudre et l'huile essentielle de la peau de *Citrus sinensis* ont fait l'objet de plusieurs études. Leurs propriétés répulsives, insecticides, larvicides et ovicides ont été démontrées pour protéger les denrées stockées (Dawit & Bekelle, 2010; Saburi *et al.*, 2015; Edu *et al.*, 2019, Gandeho *et al.*, 2022).

Peu d'études sur ces propriétés ont été suivies d'une étude granulométrique et phytochimique cherchant à éclairer les prescriptions des paysans où le profil chimique peut être différent en fonction d'implantation et de la nature du terrain ou du climat. Ainsi, la recherche granulométrique des particules de poudre et la recherche des principes actifs potentiels de la plante, constituent un enjeu

qui pourrait enrichir l'activité insecticide. Les études intéressées aux propriétés insecticides de poudres de la pelure des fruits de *Citrus sinensis* (L.) et de la poudre des fruits de *Acacia nilotica* ne sont pas arrivées au point de les associer pour formuler un insecticide obtenu par la méthode PTC (Pulvérisation Tamisage-différentielle Contrôlée). Le présent travail vise à mettre au point l'effet

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Récolte de plante et préparation de poudre

Les fruits de *Citrus sinensis* et d'*Acacia nilotica* ont été récoltés respectivement à Doukoula (10°07'01.9" Nord et 14°58'15.6" Est) et à Maroua (10°35'33.1" Nord et 14°19'15.6" Est) dans la région de l'extrême-nord-Cameroun pendant le mois de janvier 2023. Les pelures de fruits de *C. sinensis* et les fruits de *A. nilotica* ont été nettoyés avec l'eau du robinet et séchés à l'abri de la lumière et à la température ambiante ($24,25 \pm 0,7^\circ\text{C}$; HR $\approx 67,49 \pm 3,21$ %) pendant deux semaines et puis réduits en poudre dans un mortier en bois. Les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de maille de 1 mm, gardées dans des bocaux en verre étiquetés et rangés à l'obscurité au laboratoire afin d'éviter les risques d'oxydation.

2.2. Fractionnement de poudre par PTC

La distribution granulométrique des particules de la poudre obtenue a été faite par voie humide à l'aide d'un granulomètre laser (Mastersizer S, *Malvern Instruments Ltd*, Malvern, UK) (Amagliani *et al.*, 2016) avant d'être fractionnée. Le fractionnement en classes granulométriques a été fait suivant le protocole PTC (avec l'appareil de marque JNSY200) (Zaiter *et al.*, 2016), qui consiste à faire des tamisages successifs d'une masse de poudre avec des tamis de mailles décroissantes superposées. Ainsi, 100 g (masse initiale) de poudres ont été déposées sur le premier tamis. Un mouvement vibratoire vertical d'une amplitude de 0,5 mm a été appliqué aux différents types de tamis pendant 10 minutes. Les fractions de la poudre retenue sur chaque tamis et la bassine collectrice ont été recueillies et pesées afin de déterminer la quantité massique de chaque classe granulométrique. Le rendement massique de chaque fraction a été déterminé selon la formule de Pradeepa *et al.* (2016) suivante:

$$Rdt (\%) = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

avec m_1 : masse de la poudre initialement introduite pour fractionnement et m_2 : masse de la poudre retenue sur le tamis ou dans la bassine collectrice.

insecticide de pelure des fruits de *Citrus sinensis* par la méthode PTC contre *Sitophilus zeamais*, ravageur de stock des grains de maïs à l'Extrême-Nord du Cameroun. Son intérêt réside dans la mesure où il constitue une des alternatives aux produits chimiques de conservation des denrées en stockage à l'endroit des producteurs à faible revenu.

2.3. Screening phytochimique des fractions obtenues

Le screening phytochimique avec différents solvants (Hexane, Acétone et Méthanol) a été effectué pour mettre en évidence la présence des composés chimiques actifs probables dans les poudres de chaque fraction.

Identification des Alcaloïdes

Pour mettre en évidence les alcaloïdes, 2 mg d'extrait de chaque fraction de poudre a été dissout dans 6 ml de l'éthanol à 70 °C. A ce mélange, a été ajouté 2 gouttes du réactif de Dragendorff et de bouchardât pour un précipité blanc ou orangé indiquant la présence des alcaloïdes (Badiaga, 2011).

Identification des composés polyphénoliques

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) a été utilisée. Pour cela, 1 mg de l'extrait de chaque fraction de poudre de plante a été introduit dans un tube à essai, puis quelques gouttes de chlorure ferrique (10 %) ont été ajoutées. L'observation d'un précipité ou une coloration verte noirâtre a indiqué la présence des phénols alors que le bleu a indiqué la présence des polyphénols (N'guessan *et al.*, 2009).

Identification des flavonoïdes

Dans un tube à essai, on a été introduit 1 mg d'extrait de chaque fraction de poudre dans 3 ml de méthanol avec quelques copeaux de magnésium, puis 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. L'apparition d'une coloration orangée, rouge, violette indique la présence de flavonoïdes (Fankam *et al.*, 2011).

Identification des saponines

La formation d'une mousse persistante au-delà de 15 minutes indique la présence des saponines lorsqu'on a mélangé vigoureusement 0,5 g de poudre de chaque fraction dans 4 ml d'eau distillée (Badiaga, 2011).

Identification des stéroïdes et triterpènes

Les stéroïdes et les triterpènes ont été caractérisés par la réaction de Liebermann-Burchard. Ainsi, 5 mg de poudre de chaque fraction a été dissoute dans 10 ml de chloroforme. Ce mélange a été filtré avant l'ajout de 2 ml d'anhydride acétique et d'acide

sulfurique concentré. L'apparition d'un anneau bleu-vert ou rose pourpre révèle la présence des stéroïdes et une coloration violacée marque la présence des triterpènes (Fankam *et al.*, 2011).

Identification des tanins

Un 1 mg de poudre de chaque fraction a été introduit dans 2 ml d'eau distillé et 2 à 3 gouttes de FeCl_3 (1%) ont été ajoutées. Une coloration verdâtre ou bleu-noir a été développée indiquant la présence de tanins (Fankam *et al.*, 2011).

2.4. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Pradeepa *et al.*, 2016). En bref, dans 50 μl de l'extrait aqueux de chaque fraction de poudre ont été ajoutés respectivement 1 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 7 % m/v) et de 250 μl du réactif de Folin-Ciocalteu tout en agitant. Le mélange obtenu a été incubé à 40 °C pendant 30 minutes dans l'obscurité et l'absorbance a été mesurée à 765 nm par un spectrophotomètre (UV-biowave Cambridge, Angleterre). La solution d'acide gallique a été préparée à différentes concentrations pour établir une courbe d'étalonnage afin de déterminer la teneur en polyphénol. La teneur en polyphénols totaux a été en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de la matière sèche (mg EAG/g MS). Les essais ont été réalisés en triplé pour chaque échantillon. Les teneurs en polyphénols totaux des fractions ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique $Y = 0,0402 X + 0,0151$ avec $R^2 = 0,9901$.

2.5. Dosage des flavonoïdes

Une masse de 0,5 g de poudre de fraction a été agitée pendant 1h30 avec 20 ml du mélange de solvant d'extraction méthanol-eau distillée-acide acétique (140 : 50 : 10 V/V/V) (Djamilatou *et al.*, 2021). Après agitation, le mélange a été centrifugé à 3500 tr/minutes pendant 20 minutes et le surnageant a été recueilli dans un bécher de 50 ml et le volume a été complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de la jauge. Puis, dans 0,1 ml de cet extrait convenablement dilué ont été ajoutés respectivement 2,4 ml d'eau distillée et 0,15 ml de Na_2NO_2 (5 %). Après 6 minutes de repos, on a ajouté 0,3 ml d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 %) fraîchement préparé. Après 5 minutes, 1 ml de NaOH (1 M) a été ajouté. Le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. La gamme étalon a été réalisée de la même manière à partir d'une solution de la rutine à différentes concentrations et l'absorbance est mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV (UV-biowave Cambridge, Angleterre). Les résultats réalisés en triplé pour

chaque échantillon ont été exprimés en mg équivalent de la rutine par gramme de matière sèche, en se référant à la courbe d'étalonnage de la rutine $Y = 0,231X + 0,6349$ avec $R^2 = 0,9695$.

2.6. Dosage des tanins condensés

Les tannins condensés ont été dosés en présence d'acide sulfurique concentré (Sun *et al.*, 2008). Dans un volume de 1 ml de l'extrait de polyphénols a été introduit dans un tube suivi de 0,1 g de PVPP (polyvinylpyrrolidone) plus 1 ml d'eau distillée. Le mélange a été agité pendant 1 heure, puis centrifugé et le surnageant qui constitue une solution tannique sera recueillie pour la suite de l'analyse. Une quantité 0,05 μl de cette solution tannique a été mélangée avec 3 ml de vanilline (4 %), puis additionnée avec 1,5 ml d'acide sulfurique concentré. Après homogénéisation, le mélange a été mis en incubation à température ambiante pendant 30 minutes. La gamme étalon a été réalisée de la même manière à partir d'une solution mère de catéchine (1 mg/ml) et l'absorbance a été mesurée à 500 nm contre un blanc contenant de l'eau distillée. La teneur en tannins en équivalent de la catéchine par gamme de matière sèche a été calculée en se référant à la courbe d'étalonnage. Les résultats réalisés en triplé pour chaque échantillon ont été exprimés en mg équivalent de la catéchine par gamme de matière sèche, en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine $Y = 0,0402X + 0,0151$ avec $R^2 = 0,9901$.

2.7. Dosage des saponines

La teneur en saponines a été déterminée selon la méthode décrite par Junaid *et al.* (2013). A 0,1 g de l'extrait, 1 ml d'eau distillée a été ajouté et agité pendant 30 minutes. La hauteur de la mousse a été mesurée par une règle graduée et quantifiée comme suit : teneur en saponine (mg/g) = [(0,432) (hauteur de la mousse en cm après 5s à 10s) + 0,008] / (poids de l'échantillon en gramme).

2.8. Dosage des alcaloïdes

Le protocole d'extraction a été réalisé comme décrit par Harborne (1998). Ainsi, dans 1 g d'extrait de poudre a été ajouté de manière respective à 4 gouttes d'ammoniaque agitées dans un erlenmeyer de 50 ml et 15 ml d'Esther. L'ensemble a été agité et filtré par la méthode gravimétrique basée sur les précipités des alcalins, alors 3 g de poudre ont été dissouts dans 5 ml d'eau distillée suivi de l'ajout de 25 ml de H_2SO_4 (10 %). L'ensemble du volume a été filtré après 24 h de macération avant l'ajout de NH_4OH . La solution est évaporée à sec sous pression réduite. Ainsi, les extraits des alcaloïdes totaux purifiés ont été obtenus.

2.9. Formulation d'insecticide

Chacune des fractions de *Citrus sinensis* a servi pour formuler un insecticide poudreux ayant pour excipient la poudre de fruits *Acacia nilotica*. Il s'agissait de préparer un plan de mélange des particules pour obtenir une poudre homogène et de réaliser un test à trois répétitions pour chaque plan Simplexe-réseau. L'essai le plus prometteur a été retenu de par son efficacité présentant un taux de mortalité plus élevé.

2.10. Obtention des adultes de *Sitophilus zeamais*

Les individus adultes utilisés ont été sélectionnés et introduits dans un stock de maïs désinfecté provenant de l'IRAD de la variété hybride (CMS 8504). Ce stock de maïs maintenant infesté a été débarrassé des individus adultes après 32 jours post-infestation. Les adultes émergents (F1) après 5 jours ont été utilisés pour les expériences ultérieures.

2.11. Détermination de l'effet insecticide de chaque poudre formulée

Dans des bocaux en verre d'une capacité de 500 ml chacun contenant 97, 95 et 92 g de maïs désinfecté, ont été ajoutées respectivement 3, 5 et 8 g de poudre formulée (60 % de poudre de la peau de *Citrus* et 40 % de poudre des fruits *Acacia nilotica*). Un témoin négatif non traité et traité uniquement avec la poudre des fruits *Acacia nilotica* et un témoin positif traité avec «Antouka super», ont été utilisés. Après homogénéisation, chaque bocal a été infesté avec 10 couples de *S. zeamais* préalablement affamés pendant 48 heures. Tous les tests ont été réalisés à quatre répétitions et le comptage des individus morts s'est effectué 5, 35 et 90 jours après le traitement. Les mortalités corrigées (Mc) ont été déterminées selon la formule suivante: $Mc = (Mo - Mt) / (20 - Mt) \times 100$, avec (Mo) mortalités dans les boîtes traitées et (Mt) mortalité naturelle observée dans les boîtes témoins (Zakaria, 2009).

Le calcul de la DL_{50} est déduite par le tracé de la droite de régression mortalité / dose où les pourcentages de mortalités corrigées transformés en probit (Zakaria, 2009). Le calcul du pourcentage des efficacités (% E) des extraits a été réalisé en utilisant la formule suivante : $\% E = (Mc - Mx) / Mc \times 100$, avec Mc : moyenne de mortalités du lot témoin négatif ; Mx : moyenne de mortalités dans les lots traités (Powers *et al.*, 1982). L'extrait serait : très efficace si % E > 90 ; modérément efficace si % E compris entre 80 - 90 et peu efficace si % E compris entre 60 - 80. Les efficacités inférieures à 60 % seront considérées comme inefficaces (Powers *et al.*, 1982).

2.12. Activité insecticide de *Citrus sinensis* sur les différents stades du cycle évolutif

Pour obtenir les différents stades du cycle de développement du ravageur, cinq lots des graines de maïs (500 g) ont été mis dans cinq pots de 10 l de capacité. Chaque pot a été infesté par des populations de *S. zeamais* (600) pendant 24 heures pour avoir un grand nombre d'œufs sur les graines, puis ces adultes ont été supprimés par tamisage. Les traitements ont été appliqués sur les graines infestées selon les périodes suivantes: 7; 14 ; 20 ; 23 et 25 jours, correspondant respectivement aux différents âges du cycle évolutif : L1 (œufs âgés de 7 jours), L2 (œufs de 14 jours), L3 (20 jours après ponte), L4 (23 jours après ponte), nymphes (plus de 23 jours après ponte) (Steffan, 1978).

Les traitements avec chaque formulation (3; 5 et 8 g) ont été appliqués aux grains infestés à raison de 100 g par boîte d'élevage. Le bocal témoin était constitué uniquement de grains de maïs infestés durant les 24 heures. Pour chaque traitement, l'émergence d'une nouvelle génération a été observée une fois après 35 jours à partir de la date de ponte et pour les quatre répétitions, afin de vérifier l'effet ovocide, larvicide et nymphalicide des différentes formulations.

2.13. Analyses des données

Les différentes données obtenues en pourcentage de mortalités ont été soumises à l'analyse de variance avec ANOVA à un seul critère de signification au seuil de 5 % ($P < 0,05$) en utilisant le Logiciel Satgraphic version Plus 5.0. En cas de différences, le Test-t de la plus petite différence a été effectué pour la comparaison de deux moyennes. Les calculs des moyennes, des écart-types et les représentations graphiques entre les paramètres, ont été réalisés à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2013. Tandis que, le logiciel SPSS 16 full a été utilisé pour déterminer les valeurs de la DL_{50} et de la matrix de corrélations entre les taux de mortalités et les teneurs des métabolites secondaires de différentes fractions.

3. RESULTATS

3.1. Fractionnement et obtention des poudres pour les tests

La Figure 1 présente la distribution granulométrique des particules de poudre de *Citrus sinensis*. Il ressort que les caractéristiques D_{10} , D_{50} et D_{90} sont respectivement de 28,814 μm ; 156,482 μm et 310,016 μm . Ces caractéristiques traduisent respectivement que 10 %, 50 % et 90 % des particules de la poudre ont un diamètre inférieur à ces tailles (28,814 ; 156,482 et 310,016 μm). Les dimensions des mailles de tamis (≤ 100 à ≥ 400

μm) ont été choisies suivant le pourcentage des particules de poudres obtenues par la distribution granulométrique.

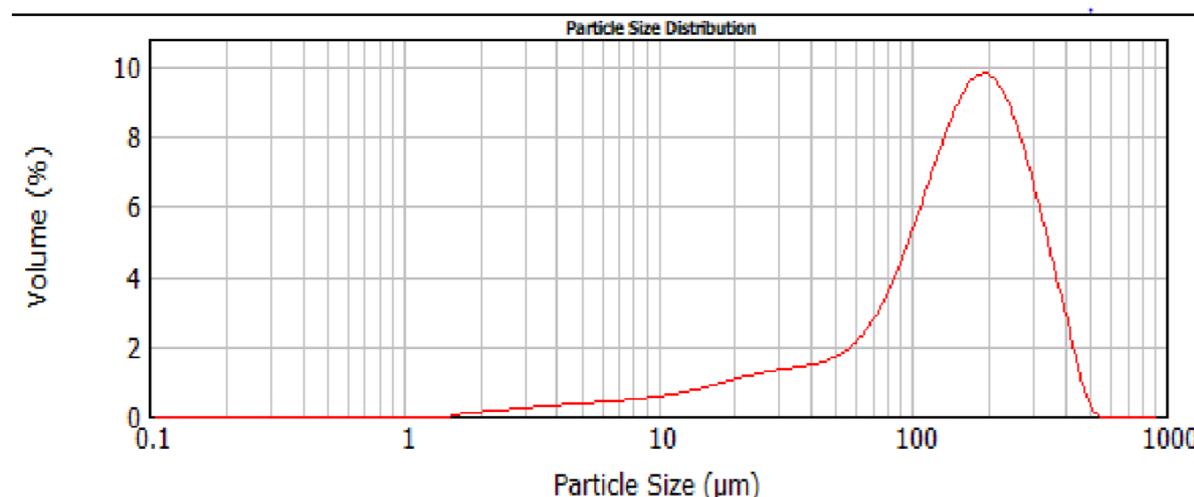


Figure 1. Distribution granulométrique des particules de la poudre de *Citrus sinensis*.

3.2. Constituants phytochimiques de la poudre de *Citrus sinensis*

Le Tableau 1 présente le criblage phytochimique des extraits de fractions de la poudre de *C. sinensis*. Les résultats de la caractérisation chimique des extraits aux différents solvants organiques révèlent la présence des polyphénols, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des tanins, des terpènes et des saponines. Les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes sont absents dans tous les extraits à l'hexane par contre les stéroïdes sont uniquement présents dans les extraits hexaniques.

Tableau 1. Criblage phytochimique de la poudre de *Citrus sinensis* en fonction des solvants

Métabolites Secondaires	Extrait à hexane				Extrait à acétone				Extrait à méthanol			
	≥ 400 μm	400-300 μm	300-200 μm	≤ 100 μm	≥ 400 μm	400-300 μm	300-200 μm	≤ 100 μm	≥ 400 μm	400-300 μm	300-200 μm	≤ 100 μm
CPT	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoïdes	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Terpènes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Stéroïdes	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Saponines	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Légende : +: positif; -: négatif; CPT: Composés Phénoliques totaux

3.3. Teneur en métabolites secondaires

Le tableau 2 présente les teneurs en composés métabolites secondaires des fractions granulométriques de *Citrus sinensis*. Il ressort de ce tableau que la teneur en polyphénols totaux est plus élevée comparée aux teneurs en flavonoïdes, tanins condensés, alcaloïdes et saponines. Les valeurs de teneurs en ces métabolites secondaires sont inférieures dans la fraction $\geq 400 \mu\text{m}$ excepté les saponines comparées aux autres fractions. La fraction 300-200 μm des pelures de fruits de *C. sinensis* a présenté des teneurs plus élevées en polyphénols ($38,31 \pm 0,15 \text{ mg EAG/g MS}$), tanins condensés ($14,23 \pm 0,50 \text{ mg EC/g MS}$), alcaloïdes ($11,28 \pm 0,01 \text{ mg ECG/g MS}$). Par contre, les teneurs en flavonoïdes ($5,72 \pm 0,01 \text{ mg ER/g MS}$) et les saponines ($0,58 \pm 0,01 \text{ mg/g}$) sont élevées dans la fraction $\leq 100 \mu\text{m}$. La teneur en polyphénols totaux de la fraction $\geq 400 \mu\text{m}$ a montré une différence significative ($P < 0,05$) comparée aux autres fractions. Une différence non significative ($P > 0,05$) a été observée entre les fractions 300-200 μm et $\leq 100 \mu\text{m}$ des teneurs en polyphénols totaux. Une différence significative ($P < 0,05$) a été observée entre les fractions $\geq 400 \mu\text{m}$ et 300-200 μm en tanins condensés.

Tableau 2. Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés, alcaloïdes et Saponines des fractions granulométriques de *Citrus sinensis*

Poudres	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	flavonoïdes (mg ER/g MS)	tanins condensés (mg EC/g MS)	Alcaloïdes (mg ECG/g MS)	saponines (mg/g)	Rendement (100 g)
≥ 400 µm	22,44 ± 0,05 ^a	4,45 ± 0,18 ^a	11,25 ± 0,50 ^a	2,15±0,10 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	18
400-300µm	36,54 ± 0,47 ^b	4,56 ± 0,02 ^a	13,84 ± 0,01 ^c	9,05 ± 0,09 ^b	0,09± 0,02 ^a	16
300-200µm	38,31 ± 0,15 ^c	5,48 ± 0,01 ^b	14,23 ± 0,50 ^c	11,28 ± 0,01 ^c	0,50 ± 0,01 ^b	21
≤ 100 µm	37,24 ± 0,52 ^{bc}	5,72± 0,01 ^b	12,37 ± 0,08 ^b	8,32 ± 0,01 ^b	0,58± 0,01 ^b	44

Les valeurs représentent les Moyennes ± écart-types (n = 3). Les différentes lettres en exposant sur la même colonne indiquent une différence significative ($P < 0,05$).

Légende : EAG (équivalents acide gallique), ER (équivalents rutine), EC (équivalents catéchine), ECG (équivalents cyanidine 3-glucosidique), MS (matière sèche).

3.4. Détermination de l'efficacité insecticide de chaque fraction contre *Sitophilus zeamais*

La mortalité des adultes de *S. zeamais* vis-à-vis de chaque formulation d'insecticide utilisé a été observée, ainsi que l'inhibition du cycle de développement de cet insecte cible. Toutes les doses de la plante testées (3; 5 et 8 g/kg) ont entraîné une mortalité significative ($P < 0,05$) des adultes de *S. zeamais*, comparés au témoin négatif (sans poudre) qui révèle une mortalité de $12,50 \pm 9,01$; $22,5 \pm 5,59$; et $15 \pm 3,53$ % respectivement après 5; 35 et 90 jours de traitement. La Figure 2 montre que l'activité insecticide de *C. sinensis* sur la mortalité des adultes de *S. zeamais* dépend des fractions granulométriques. Il ressort de cette figure que les fractions ≤ 100 µm et 300-200 µm ont induit un effet dose dépendante tandis que les fractions 400-300 µm et ≥ 400 µm ont montré un effet non dose dépendante, car la dose 5 g/kg a induit une mortalité supérieure à celle de la dose de 8 g/kg ($P > 0,05$).

La Figure 3 quant à elle, montre que la dose de 5 g/kg des fractions 300-200 µm et ≥ 400 µm ont induit une mortalité plus élevée que la dose de 8 g/kg. Après 90 jours de traitement, l'activité insecticide de toutes les fractions est toujours variable en fonction des doses utilisées (Fig. 4). Cependant, la mortalité observée demeure moins élevée que celle obtenue dans le bocal témoin positif (Antouka super) qui révèle une mortalité totale de $100 \pm 0,01\%$ au cinquième jour du traitement à la dose de 0,5 g/kg. Ainsi, la dose de 8 g/kg de la fraction ≥ 400 µm a entraîné un taux de mortalité de $44,28 \pm 9,35$ % (Fig. 2), de $41,56 \pm 10,88$ % (Fig. 3) et de $45,37 \pm 7,96$ % (Fig. 4) respectivement après 5 ; 35 et 90 jours. A la plus grande dose, la fraction 300-200 µm a induit des mortalités importantes de $95,55 \pm 4,71$ %; $94,95 \pm 5,85$ % et $48,36 \pm 9,18$ % respectivement après 5; 35 et 90 jours (Fig. 2, 3, 4). Les mortalités observées à des différentes fractions granulométriques seraient dues à la constitution chimique et biochimique de pelure de fruit de *Citrus sinensis*. Les résultats obtenus par la poudre d'*Acacia nilotica* à la dose de 10 g/kg (16,66 et 24,63 %) pendant 5 et 35 jours ont entraîné une mortalité non significative par rapport à ceux des grains non traités (12,5 et 22,5 %). Après 90 jours de traitement, les taux de mortalité ont baissé en dessous de 50 % dans chaque fraction (Fig. 4). Néanmoins, les taux de mortalités obtenus dans les différentes fractions sont plus élevés que ceux observés dans le témoin non traité et traité avec la poudre de *A. nilotica*.

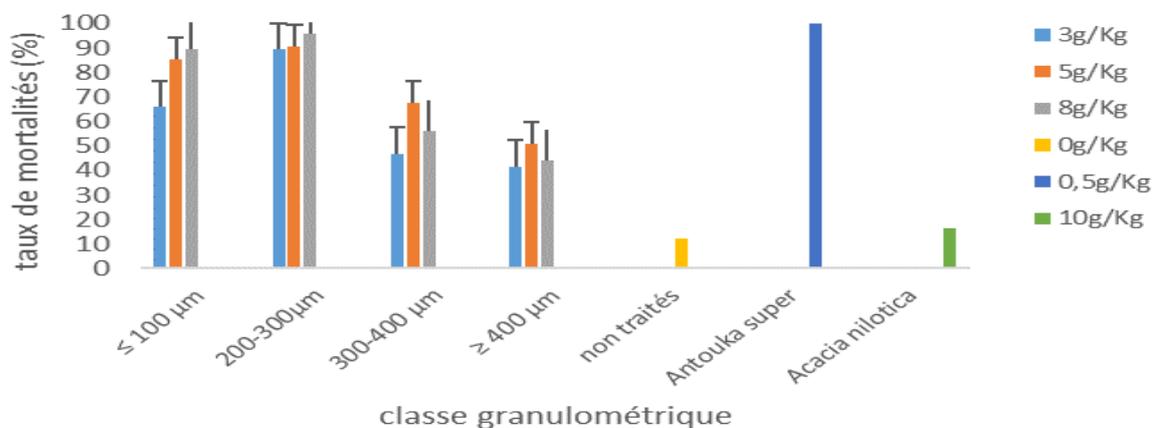


Figure 2. Activité insecticide de *Citrus sinensis* contre les adultes de *Sitophilus zeamais* pendant 5 jours

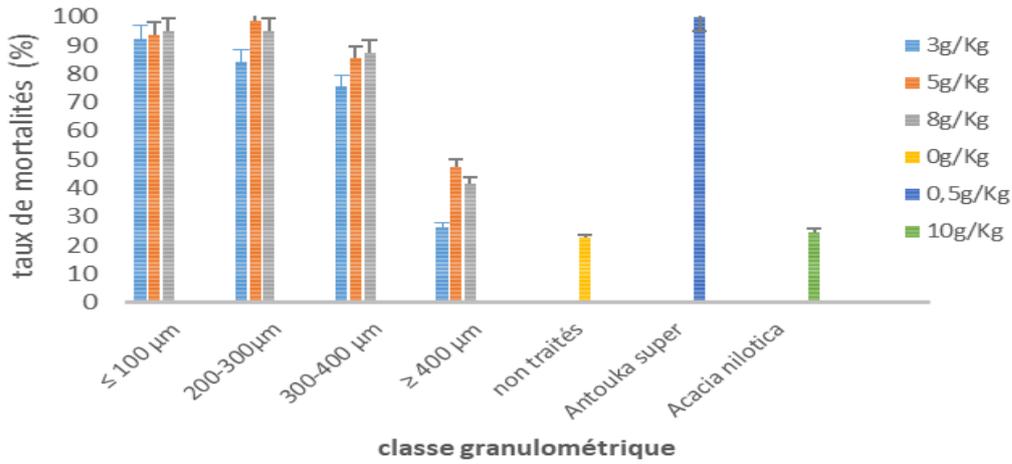


Figure 3. Activité insecticide de *Citrus sinensis* contre les adultes de *Sitophilus zeamais* pendant 35 jours

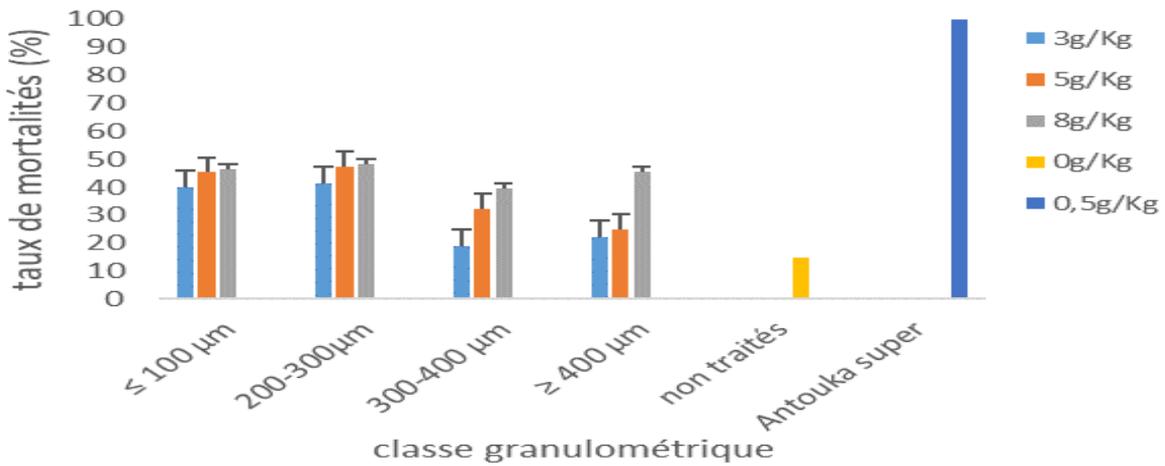


Figure 4. Activité insecticide de *Citrus sinensis* vis-à-vis de *Sitophilus zeamais* pendant 90 jours

3.5. Activité insecticide de *Citrus sinensis* vis-à-vis des différents stades évolutifs

Le Tableau 3 révèle l'impact de poudres de pelure de *C. sinensis* prise individuellement sur le cycle de développement de *S. zeamais*. Il existe une différence significative ($P < 0,05$) entre fractions et le témoin non traité sur l'émergence de la population de première génération. Le nombre moyen de L1, L2, L3, L4 et nymphes des émergents dans les lots des graines non traités sont respectivement de $6,0 \pm 0,8$; $11 \pm 2,5$; $5,0 \pm 1,6$; $8,0 \pm 2,9$ et $7,0 \pm 2,1$. Tous les traitements avec les différentes quantités de poudre d'insecticide formulé, n'ont permis aucune émergence (0 adulte émergeant) dans les lots traités sur les différents stades du cycle évolutif (œufs, larves et nymphes) de cet insecte ravageur.

Tableau 3. Activité insecticide de *Citrus sinensis* vis-à-vis des œufs, larves et nymphes de *Sitophilus zeamais*

Stades du cycle Evolutif	Traitement à 3 g/kg				Traitement à 5 g/kg				Traitement à 8 g/kg				0 g/kg
	≥ 400 µm	400-300 µm	300-200 µm	≤ 100 µm	≥ 400 µm	400-300 µm	300-200 µm	≤ 100 µm	≥ 400 µm	400-300 µm	300-200 µm	≤ 100 µm	
L1 (7)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$6,0 \pm 0,8$
L2 (14)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$11,0 \pm 2,5$
L3 (20)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$5,0 \pm 1,6$
L4 (23)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$8,0 \pm 2,9$
Nymphes	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$7,0 \pm 2,1$

3.6. Détermination de la DL₅₀

Le calcul de la DL₅₀ classe les différentes fractions granulométriques de poudre en fonction de leurs efficacités sur la mortalité du ravageur cible. Les DL₅₀ des fractions suivantes : ≥ 400 ; 400-300; 300-200 et ≤ 100 μm sont respectivement de $3,4 \pm 0,3$; $3,0 \pm 0,6$; $2,3 \pm 0,5$ et $2,51 \pm 0,04$ g/kg. La fraction 300-200 μm a été la plus efficace suivie de la fraction ≤ 100 μm .

3.7. Teneurs en métabolites secondaires et mortalités dues à des fractions de *Citrus sinensis*

Le tableau 4 présente la corrélation entre teneurs en métabolites secondaires et mortalités dues à des différentes fractions de *C. sinensis*. Il ressort du tableau 4 que la corrélation est positive entre la teneur en alcaloïdes, en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en tanins et les valeurs des mortalités obtenues avec les différentes doses en 5; 35 et 90 jours vis-à-vis de *Sitophilus zeamais*. L'activité des alcaloïdes, des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés présente une corrélation significative ($P < 0,05$) et positive avec les valeurs des mortalités obtenues, exceptée pour l'activité des saponines où la corrélation est non significative ($P > 0,05$).

Tableau 4. Matrice de corrélation de Pearson (n) entre teneurs en métabolites secondaires et mortalités des différentes fractions de *Citrus sinensis*

	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins	Alcaloïdes	Saponines	3 g/kg	5 g/kg	8 g/kg	Efficacité(%)
Polyphénols	1								
Flavonoïdes	0.650	1							
Tanins	0.804	0.447	1						
Alcaloïdes	0.964	0.596	0.933	1					
Saponines	. ^a								
3 g/kg	0.673	0.888	0.741	0.741	. ^a	1			
5 g/kg	0.891	0.918	0.722	0.864	. ^a	0.901	1		
8 g/kg	0.890	0.975	0.623	0.758	. ^a	0.929	0.981	1	
Efficacité (%)	0.894	0.913	0.735	0.871	. ^a	0.905	1.000	0.979	1

Légende : a. ne peut pas être calculé parce qu'au moins l'une des variables est constante (1).

4. DISCUSSION

L'étude de la distribution granulométrique des particules de poudre de la pelure de *Citrus sinensis* a révélé que 50 % et 90 % des particules de poudre ont un diamètre respectivement inférieur à 156,482 μm et 310,016 μm , justifiant ainsi l'intervalle extrême de tailles des choix de tamis (100 à 400 μm). Le procédé PTC a permis d'obtenir quatre fractions granulométriques (≤ 100 μm , 200-300 μm , 300-400 μm et ≥ 400 μm) de poudre de *C. sinensis* avec des rendements variables (44, 21, 16 et 18 g). Cette variabilité de rendement des quatre extraits peut être due à la différence de la granulométrie des particules.

L'étude phytochimique de chaque fraction de poudre a montré que la pelure du fruit de la plante contient des polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines, alcaloïdes, stéroïdes et terpènes. Ces études corroborent les résultats des tests obtenus sur la peau du fruit de *C. sinensis* relevant la présence des flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes, terpènes, saponines et des phénols (Al-Saadi *et al.*, 2009). La présence de ces métabolites pourrait expliquer les activités anti-insectes de *C. sinensis*.

Les résultats de ces travaux (tableau 2) ont révélé la présence des métabolites secondaires avec des proportions variantes et inégales selon la distribution granulométrique de poudre de l'extrait. Les écorces de *C. sinensis* sont beaucoup plus riches en polyphénols totaux donc sa teneur varie de $22,4 \pm 0,1$ à $38,3 \pm 0,1$ mg EAG/g MS. Ces résultats sont en concordance avec les travaux antérieurs (Doukani & Tabak, 2017) qui ont montré que la concentration en composés phénoliques totaux de l'extrait hydro-méthanolique de *C. sinensis* est de $23,2 \pm 0,7$ mg EAG/g d'extrait. Cette valeur est comprise entre celle obtenue des fractions ≤ 100 et ≥ 400 μm . Toutefois, d'autres études ont montré que les teneurs en polyphénols totaux des extraits d'écorce d'orange ($84,5$ μg EAG/g ES) sont variables et non conformes avec les résultats tests obtenus (Tigrine, 2016). La présente étude a montré que la teneur en flavonoïdes totaux ($5,7$ mg ER/g MS) est faible par rapport à celle obtenue pour l'extrait de l'orange ($7,7$ mg ER/g) (Said & Djouadi, 2021). Ces différences pourraient être expliquées par les méthodes d'extractions utilisées, par des facteurs : granulométriques des particules, génétiques, climatiques et de la saison de récolte. Les fractions dont la taille de particules est inférieure à 400 μm

contiennent plus de polyphénols que les autres fractions supérieures à 400 μm . Ceci à cause de non rupture des liaisons covalentes liant les polyphénols aux carbohydrates des composés chimiques des plantes (Van Craeyveldt *et al.*, 2009). Cette libération variable des principes actifs serait due au broyage qui a permis de déstructurer la cellule, de disperser le contenu des parois (Djantou, 2018). Il est donc évident qu'il ait augmentation de la teneur en métabolites secondaires avec la réduction de la taille des particules des poudres.

D'après les résultats obtenus des tests avec les différentes formulations, il ressort que les poudres des fractions issues de pelures sèches des fruits de *C. sinensis* sont efficaces dans la protection des grains de maïs contre les attaques de *S. zeamais*. En effet, les différentes fractions poudreuses ont présenté des effets insecticides. Les mortalités observées après 5; 35 et 90 jours de traitement seraient dues aux effets toxiques et à la nature chimique des molécules actives contenues dans les poudres des plantes (Kouninki *et al.*, 2010). Plusieurs travaux antérieurs ont montré que les poudres des épluchures d'orange ont un effet insecticide sur *Callosobruchus maculatus* (Gandeho *et al.*, 2022). Ces auteurs ont montré que la quantité de poudre pouvant causer la mort de 50 % d'une population de *C. maculatus* était de $2,06 \pm 1,3$ g pour 1kg d'insectes à 30 ± 1 °C en 24 heures. Alors que la DL_{50} de la poudre de la fraction la plus efficace est de $2,37 \pm 0,53$ g/kg en 96 heures. De nombreuses études ont montré que les poudres de *C. sinensis* à la dose de 5 g ont entraîné un taux de mortalité de $45,00 \pm 3,33$ pendant 96 heures d'exposition à *Zabrotes subfasciatus* (Dawit & Bekelle, 2010).

Ce taux demeure inférieur à celui de la fraction 200-300 μm (90,6 %) utilisée à la même dose. Ces différences pourraient être expliquées par la sensibilité des différentes espèces d'insectes aux différents composés métabolites de poudres des épluchures de *C. sinensis* et à la méthode d'obtention des poudres ou extraits. Des travaux similaires ont révélé que la poudre de pelure des fruits de *C. sinensis* a un effet répulsif avec un pourcentage moyen de répulsion à 100 % après 6 heures d'exposition de *C. maculatus* (Gandeho *et al.*, 2022). Cette action pourrait être due à la teneur

5. CONCLUSION

Cette étude s'est faite autour de tests qui ont permis de retenir un certain nombre de résultats majeurs. L'ensemble des résultats obtenus a montré que la pelure des fruits de *C. sinensis* contient des métabolites secondaires à forte teneur variable selon les différentes classes granulométriques. Le procédé PTC a induit

des alcaloïdes qui possèdent des propriétés répulsives ou anti-appétantes, inhibitrices à l'égard des insectes ravageurs (Pelletier, 2001; Ngamo *et al.*, 2001; Bruneton, 2014). L'insecticide formulé de la fraction ≥ 400 μm à la dose de 5 g a induit une mortalité de 50,9 % pendant 96 heures sur le ravageur des grains de maïs, par contre, Saburi *et al.* (2015), dans leur étude antérieure avec les poudres de la peau de *C. sinensis* ont montré un faible taux de mortalité (21,7 %) après 72 heures à la même dose. Cette différence de mortalités pourrait s'expliquer par la durée d'expérimentation. Cela pourrait être également expliqué par l'utilité du procédé PTC qui fait varier la présence dans les extraits, de certains métabolites secondaires tels que les polyphénols, les alcaloïdes et les tanins (Tableau 1) dont leur toxicité vis-à-vis des insectes a été montrée dans plusieurs travaux. Parmi ces études, il y a les travaux de Regnault-Roger *et al.* (2008) qui ont montré que les polyphénols provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte. Par ailleurs, les tanins présentent un effet toxique pour certaines espèces d'insectes ravageurs en influençant leur croissance, leur développement et leur fécondité. Ainsi, les plantes aromatiques et leurs molécules bioactives exercent une double activité par inhalation et inhibition sur les différentes phases du cycle reproductif de la fécondité (Vandenborre *et al.*, 2011).

L'étude de la corrélation entre teneurs en métabolites secondaires et mortalités dues à des différentes fractions de *C. sinensis* montre une corrélation significativement positive ($P < 0,05$) entre l'activité des alcaloïdes, des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins et les pourcentages d'efficacité des poudres fractionnées contre *S. zeamais* pendant trois mois de stockage. Des travaux antérieurs ont montré qu'il existe une corrélation entre le tanin de trois variétés de voandzou et les taux d'attaque des *C. maculatus* pendant trois mois de stockage (Goudoum *et al.*, 2023). Ces résultats justifieraient le fait que la mortalité des adultes de *S. zeamais* et l'inhibition de son cycle évolutif serait due à la présence des constituants biochimiques contenus dans l'organe de la plante.

clairement un enrichissement en composés actifs pour certaines classes granulométriques qui sont responsables de l'activité insecticide, ovocide, larvicide et nymphalicide de *S. zeamais*. La fraction de 300-200 μm contient des teneurs élevées en métabolites secondaires et présente aussi une mortalité plus élevée en pourcentage par rapport

aux autres fractions. Il existe donc, une nette corrélation positive entre les teneurs en métabolites secondaires et les mortalités dues à des différentes fractions de poudre de *C. sinensis*. Des études

Références

- Al-Saadi N.H.M., Ahmad N.S. & Sa'eed S.E., 2009. Détermination de certains composés chimiques et effet de l'extrait d'huile d'écorce d'orange sur certains agents pathogènes. *Journal de l'Université de Kerbala, Chemistry department*, 7 (2), 33-39. <https://www.iasj.net/iasj/download/54e42898856c6463>.
- Amagliani L., O'Regan J., Kelly A. L. & O'Mahony J. A., 2016. Propriétés physiques et d'écoulement des poudres de protéines de riz, *Journal of Food Engineering*, 190, 1-9. DOI:10.1016/j.jfca.2016.12.026
- Badiaga M., 2011. *Etudes ethnobotaniques, phytochimiques et biologiques de Nauclea latifolia smith, plante médicinale africaine récoltée au Mali*. Thèse de doctorat, Chimie Organique. Bamako: Université de Bamako, 183 p.
- Baudelaire E., 2013. *Brevet WO2013057379A1-Procédé PTC d'extraction à sec de principes actifs naturels*. GooglePatents <http://www.google.com/patents/WO2013057379A1.Cl=en>.
- Boedeker W., Watts M., Clausing P. & Marquez E., 2020. La répartition mondiale des intoxications aiguës non intentionnelles aux pesticides: estimations basées sur une revue systématique. *Santé publique BMC*, 20(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09939-0>
- Bruneton J., 2014. *Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes Médicinales*. (6^e éd., révisée et augmentée). Tec & Doc: Paris, 1288 p.
- Cruz J.F., Hounhouigan D.J. & Fleurat-Lessard F., 2016. *Conservation des grains après récolte*. Éditions Quæ, CTA. Presses agronomiques de Gembloux, 20 p.
- Dawit K.Z. & Bekelle J., 2010. Évaluation de la peau d'orange *Citrus Sinensis* (L) comme source de répulsif, de toxique et de protecteur contre *Zabrotes Subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae), *Ethiopian Journal of Science*, 2(1), 61-75. <https://www.researchgate.net/publication/266379187>
- Djamilatou Z.S., Djibo A.K., Sahabi B. & Seini S.H., 2021. Screening phytochimique, dosage des polyphénols et détermination de l'activité antioxydante de deux plantes antihypertensives du Niger. *Journal scientifique européen, ESJ*, 17(17), 335. <https://doi.org/10.19044/esj.2021.v17n17p33>
- Djantou E. B., 2018. *Optimisation du broyage des mangues séchées (mangifera indica var Kent) : influence sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des poudres obtenues*. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. 105-113 pp.
- Doukani K. & Tabak S., 2017. Profil phytochimique de certaines espèces de *Citrus* (*C. aurantium*, *C. sinensis* et *C. limonum*). *Revue Ecology-Environment*, 13, 1-4. <http://fsnv.univ-tiaret.dz/index.php/13-la-review/10-review>.
- Edu N.E., Ubi G.M. & Adah P.O., 2019. Utilisation potentielle de la poudre d'écorces d'orange (*Citrus sinensis*) et de raisin (*Citrus paradisi*) comme bioinsecticides dans la lutte contre le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais*). *JECET*, 8(3), 265-272. DOI : 10.24214/jecet.A.8.3.26572.
- Fankam A. G., Kuete V., Voukeng I. K., Kuate R. J. & Pages J.M., 2011. Activités antibactériennes de certaines épices camerounaises et leurs effets synergiques avec des antibiotiques contre les phénotypes multirésistants. *Complementary and Alternative Medicine*, 11, 104-109. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-104>
- FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture), 2018. *Rapport de la réunion conjointe du Groupe d'experts de la FAO sur les résidus de pesticides dans les aliments et l'environnement et du Groupe d'experts de l'OMS sur les résidus de pesticides*. FAO Plant Production and Protection Paper, 234 p.
- FAO, 2021. *Rapport de la cinquante-deuxième session du Comité du Codex sur les résidus de pesticides, 26-30 juillet et 3 août*, 252 p.
- Gandeho G.J., Tchekessi C.K.C., Aboubakar S.D., Tamadaho M.P. & Odjoumani E.J., 2022. Effet répulsif et insecticide des extraits totaux de peau d'orange sur *Callosobruchus maculatus* fab, un ravageur des graines de niébé (*Vigna unguiculata* L., Walp). *J. Appl. Biosci*, (172), 17881 - 17892. <https://doi.org/10.35759/JABs.172.3>.
- Goudoum A. & Ngamo T. L. S., 2023. Susceptibilité de trois variétés de niébé (*Vigna subterranea*) face à *Callosobruchus maculatus* en fonction de leur contenu nutritionnel et antinutritionnel. *Mor. J. Agri. Sci.*, 4(1), 28-34. DOI: 10.5281/zenodo.8003759.
- Goudoum A., Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B. & Mbofung C.M., 2013. Persistance des composés actifs des huiles essentielles de *Clausena anisata* (rutacées) et de *Plectranthus glandulosus* (lamiacées) utilisées comme insecticides sur les grains et la farine de maïs. *AJFAND*, 13(1), 7325-7335. DOI:10.18697/ajfand.56.9760.
- Goudoum A., Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B., Tatsadjieu L.N. & Mbofung C.M., 2010. Sensibilité de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Curculionidae) aux applications répétées de doses létales d'imidaclopride et d'extraits de *Clausena anisata* (Rutacées) et de *Plectranthus glandulosus* (Lamiacées). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 4(4), 1242-1250. DOI:10.4314/ijbcs.v4i4.63060.

- Harborne J.B., 1998. *Traité de méthodes phytochimiques. Guide des techniques modernes d'analyse des plantes*. 5e édition, Chapman and Hall LTD, Londres, 21-72. pp
- Junaid S., Rakesh K. N., Dileep N., Poornima G., Kekuda T. R. P. & Mukunda S., 2013. Contenu total de phénols et activité antioxydante de l'extrait de graines de *Lagerstroemia speciosa* L. *Chemical Science Transactions*, 2(1), 75-80. DOI:10.7598/cst2013.310.
- Kouninki H., Hance., Djouadi D., Noudjou F., Lognay G., Malaisse F., Ngassoum M. B., Mapongmetsem P.M., Ngamo L.S.T. & Hanbruge E., 2010. Effets persistants d'une préparation d'huile essentielle de *Xylopiya aethiopia* contre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), *African Journal of Agricultural Research*, 5(14), 1881-1888. <https://doi.org/10.5897/AJAR.9000537>.
- Macauley H. & Ramadjita T., 2015. *Les cultures céréalières : riz, maïs, mil, sorgho et blé*. Africa Rice Center, Benin, 38 p.
- N'guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D. & Ake A. L., 2009. Étude phytochimique de certaines plantes médicinales ivoiriennes utilisées dans le pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Science and Nature*, 6(1), 1-15. DOI:10.4314/scinat.v6i1.48575.
- Nasra Zohry M. H., Salwa A. A., Abdelwahab A. I., 2020. Toxicité de dix huiles essentielles et comestibles indigènes contre le charançon du grain, *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences F. Toxicology & Pest Control*, 12(2), 219 – 227. DOI : 10.21608/eajbsf.2020.124238.
- Ngamo L.S.T., Ngassoum M.B., Jirovetz L., Ousman A., Nukenine E.C. & Mukaka O.E., 2001. Protection du maïs stocké contre *Sitophilus zeamais* (Motsch.) par l'utilisation d'huiles essentielles d'épices du Cameroun, *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 66 (2a), 473 - 478. PMID: 12425068.
- Nukenine E.N., 2010. Protection des produits stockés en Afrique: passé, présent et avenir. 10ème Conférence Internationale de Travail sur les Pests des Produits Stockés. *Jul. -Kühn-Arch*, 425, 26-41.
- Pelletier S.W., 2001. *Alcaloïdes: Perspectives chimiques et biologiques*. Pergamon press, 13, 656 p.
- Powers K. G., Wood I. B., Eckert J., Gibson T. & Smith H. J., 1982. Lignes directrices de l'Association mondiale pour l'avancement de la parasitologie vétérinaire (W.A.A.V.P.) pour évaluer l'efficacité des antihelminthiques chez les ruminants (bovins et ovins). *Veterinary Parasitology*, 10, 205-264. DOI : [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(82\)90078-4](https://doi.org/10.1016/0304-4017(82)90078-4).
- Regnault-Roger C., 2002. Nouveaux phytoinsecticides pour le troisième millénaire. in *Regnault-Roger C., Philogène B. J. R., Vincent C. Biopesticides d'origine végétale*. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, pp.19-39.
- Pradeepa M., Kalidas V. & Geetha N., 2016. Analyse phytochimique qualitative et quantitative et activité bactéricide de *Pelargonium graveolens* her. *International Journal of Pharmaceutic*, 8(3) 7-11. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijap.2016v8i3.9075>.
- Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C., 2008. *Biopesticides d'origine végétale* (2nd éd.). Lavoisier, Paris, 550 p.
- Saburi A.A., Chuks F.N., Hellen O.I. & Onyedikachi C.E., 2015. Enquête sur l'efficacité insecticide de la peau de *Citrus sinensis* (L.) sur *Sitophilus zeamais*, *Academica Editores: Acta Velit*, 1(3), 1-4. <https://www.actavelit.com>.
- Said A. & Djouadi D., 2021. *Effets des solvants d'extraction sur la composition chimique de deux fruits d'hiver: Citrus sinensis et Citrus limon*. Mémoire de Master, Faculté des Sciences naturelles et vivantes, Département de chimie, Université de Biskra, 54-68. pp
- Steffan J. R., 1978. Description et biologie des insectes 1-65. In *Scotti, G. Les insectes et acariens des céréales*. AFNOR/ITCF, Paris, 238 p.
- Sun B. S., Ricardo-Da-Silva J. M. & Spranger M. I., 2008. Facteurs critiques du dosage de la vanilline pour les catéchines et les proanthocyanidines. *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 46, 4267-4274. <https://doi.org/10.1021/jf980366j>.
- Tamgno B.R. & Ngamo Tinkeu L.S., 2013. Utilisation de produits dérivés du neem (*Azadirachta indica*) comme alternatives aux insecticides conventionnels et dangereux dans la semence des grains de maïs et sorgho dans la vallée du logone. Sciences, Edition spéciale: hommage g.e. ekodeck. *Géosciences et Appui au Développement*, 15, 1-9.
- Tian X.M., Wu F.H., Zhou G.X., Guo J., Liu X.Q. & Zhang T., 2023. Marqueurs volatils potentiels du riz brun infesté par le charançon du riz, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Food Chem.*, X, 17, 100540. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100540>
- Tigrine N., 2016. *Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis*. Mémoire de Master, Université de Béjaïa, 49-50. pp.
- Van Craeyveld V., Holopainen U., Selinheimo E., Poutanen K., Delcour J.A. & Courtin C.M., 2009. Un broyage à sec extensif du son de blé et de seigle conduit à la production in situ d'oligosaccharides arabinoxylanes par fragmentation à l'échelle nanométrique. *J. Agric. Food Chem*, 57(18), 8467-8473. <https://doi.org/10.1021/jf901870r>.
- Vandenborre G., Smagge G. & Van Dammea J.M., 2011. Les lectines végétales comme protéines de défense contre les insectes phytophages. *Phytochimie*, 72(13), 1538-1550. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.02.024.
- Werrie P. Y., Durenne B., Delaplace P. & Fauconnier M. L., 2020. Phytotoxicité des huiles essentielles : Opportunités et contraintes pour le développement de biopesticides. *Foods*, 9 (9), 1291. <https://doi.org/10.3390/foods9091291>
- Zaiter A., Becker L., Karam MC. & Dicko A., 2016. Effet de la taille des particules sur l'activité antioxydante et la teneur en catéchine des poudres de thé vert. *J. Food Sci. Technologie*, 53, 2025-2032. DOI : 10.1007/s13197-016-2201-4.

Zakaria I. 2009. *Activité biologique de quatre huiles essentielles contre Callosobruchus maculatus Fab. (Coléoptères: Bruchidae), insecte ravageur des stocks de niébé au Burkina Faso.* Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, UFR/Sciences de la Vie et de la Terre, pp. 63-65.

Zaki O., Weekers F., Thonart P., Tesch E., Kuenemann P. & Jacques P., 2020. Facteurs limitants du développement des mycopesticides. *Contrôle biologique*, 144, 1-12.
DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104220.