



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ (BOU ARREKIDJ)

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences Agronomiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ (BOU ARREKIDJ)

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

Thème

Evaluation de l'effet répulsif et toxique des huiles essentielles de *Thymus pallescens* (de Noé.) et *Cymbopogon citratus* (Stapf.) contre *Sitophilus granarius* L.

Présenté par : CHETTIH Meriem et BENKECHIDA Chahra

Devant le jury :

Président : M^{me}S. ZIOUCHE MCB (Université de BBA)

Encadrant : M^D. MOUTASSEM MCB (Université de BBA)

Examineur : M^D. LAIB MAA (Université de BBA)

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Tous d'abord, nous remercions dieu de nous avoir donné la santé, le courage, la patience, les moyens et le pouvoir afin d'accomplir ce modeste travail.

Nos remerciements le plus vifs s'adressent à notre promoteur M^rD. MOUTASSEM qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, ses précieuses aides, ses encouragements, sa patience et ses conseils, pour son soutien et sa grande générosité, tout le long de nos travaux, nous assurons de profonde gratitude .

Nos remerciements s'adressent à M^{me}S .ZIOUCHE d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions également l'examineur, M^rD. LAIB.

Nos vifs remerciements M^rN. MEKHOUCHE et M^r R KHALIL.

En fin nos vifs remerciements vont à toutes les personnes qui nous ont aidés à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer en leur effort, soutien, encouragement, patience et l'expression de ma gratitude, leur amour et soutien pour ma réussite dans mes études.

A mes très chers frères Zakaria et Yakoub.

A mes chères sœurs Zyneb et Soundess.

A mon cher binôme Chahra.

*A mes amies Fatima, Salíha, Sarah, Madiha, Amani et Amel.
Toutes les personnes que je connaisse.*

Meriam Chettih

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers grands parents aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer en leur effort, soutien, encouragement, patience et l'expression de ma gratitude, leur amour et soutien pour ma réussite dans mes études.

A mon père et sa femme.

A mes très chers frères Saleh, Abdoulam, Abdourahmene et redouene.

A mon cher binôme Meriem.

A mes amies Fatima, Salha, Kenza, roukaya, Amel, Sarah, Madiha, Amani et Amel.

Toutes les personnes que je connaisse.

BENKECHUDA Chahra

Evaluation de l'effet répulsif et toxique des huiles essentielles de *Thymus pallescens* (de Noé.) et *Cymbopogon citratus* (Stapf.) contre *Sitophilus granarius* L.

Résumé

La présente étude a pour objectifs l'évaluation de l'effet biocide et répulsif des huiles essentielles de *Thymus pallescens* et de *Cymbopogon citratus* contre *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera : Curculionidae) *in vitro* et *in vivo*. Les doses létales (DL₅₀), l'effet répulsif et la réponse physiologique chez les adultes de *S. granarius* après exposition aux huiles essentielles ont été évaluées. Dans cette étude, les huiles essentielles testées ont montré effet toxique et répulsif très remarquable contre *S. granarius* d'une manière dose-dépendante. Cependant, l'huile essentielle de *T. pallescens* est le plus toxique par rapport à *C. citratus*, et génère des valeurs de DL₅₀ de 2.89 µL/mL par contact direct, et 47.89 µL/ 1 L air par fumigation. De plus, l'huile essentielle de *T. pallescens* a présenté un effet plus répulsif avec des valeurs allant de 41.27 jusqu'à 100 % comparée avec celle de *C. citratus*. Les tests *in vivo* ont montré que la probabilité de survie était de 99,9 % chez les insectes témoins, diminuant à 2,48 % chez les insectes exposés à l'huile essentielle de thym et jusqu'à 36 % chez les adultes traités avec l'huile essentielle de *C. citratus*. Les résultats obtenus indiquent un effet significatif sur le profil métabolique des insectes traités. Les deux huiles essentielles ont diminué les teneurs des protéines, des glucides et des lipides chez les adultes de *S. granarius*. Cette étude démontre que les formulations des huiles essentielles à base de *T. pallescens* et *C. citratus* pourraient être considérées comme des alternatives efficaces aux insecticides chimiques pour la lutte contre les ravageurs des denrées stockés d'une manière écologiquement durable.

Mots clés. Mortalité corrigée, probabilité de survie, énergie, markers, contact toxicité, Fumigation toxicité.

Assessment of repulsive and toxic activity of *Thymus pallescens* (de Noé.) and *Cymbopogon citratus* (Stapf.) essential oils against *Sitophilus granarius* (L).

Abstract

The objectives of this study are to evaluate biocidal and repellent activities of *Thymus pallescens* and *Cymbopogon citratus* essential oils against *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) *in vitro* and *in vivo*. The lethal doses (DL₅₀), repellent effect, and physiological response on adults of *S. granarius* after exposure to essential oils were evaluated. In this study, the *T. pallescens* essential oil was the most effective toxicant compared to *C. citratus*, as well as generate lethal concentrations values of LC₅₀=2.89 µL/mL in contact test, and 41.27 µL/ 1L air in fumigation test. In addition, essential oil of *T. pallescens* was more repellency effect with values ranged from 41.27% to 100 % compared to *C. citratus*. In vivo test, the survival probability was 99.9% in control insects, decreasing to 2.48% in insects exposed to the *T. pallescens* essential oil and 36% in insects treated with essential oils of *C. citratus*. Moreover, data showed that treatment of *S. granarius* adults had significant effects on the levels of metabolic profile. Both essential oils decreased the protein, carbohydrate and lipids levels in adults of *S. granarius*. Obtained data demonstrate that essential oils formulations could be considered as effective alternatives to chemical insecticides for pest control of foodstuffs stored in an ecologically sustainable manner.

Keywords: Corrected mortality; Survival probability; Energy biomarker; contact toxicity, Fumigation toxicity.

تقييم المفعول السمي و الطارد للزيوت الأساسية *Cymbopogon citratus* و *Thymus pallescens* ضد *Sitophilus granarius* (L).

ملخص

تهدف هاته الدراسة الى تقييم التأثير السمي و الطارد للزيوت الأساسية المستخلصة من نبات الزعتر (*Thymus pallescens*) ونبات الليموني (*Cymbopogon citratus*) ضد *Sitophilus granarius* L. في المختبر. التركيزات المميتة (DL_{50})، التأثير الطارد والاستجابة الفسيولوجية قد تم تقييمها على الحشرات البالغة من *S. granarius* بعد تعريضها للزيوت الأساسية. في هذه الدراسة، أظهرت الزيوت الأساسية المختبرة تأثيراً ساماً وطارداً ملحوظاً للغاية ضد *S. granarius* بطريقة تعتمد على الجرعة. لكن الزيت الأساسي لنبات الزعتر *T. pallescens* هو الأكثر فاعلية بالمقارنة مع *C. citratus*. اثبت الزيت الأساسي ل *T. pallescens* انه الأكثر فاعلية مع إحداث قيم تركيزات قاتلة DL_{50} تقدر ب 2.89 $\mu\text{L}/\text{mL}$ في اختبار التلامس المباشر، و $47.89 \mu\text{L}/\text{L}$ هواء في اختبار التبخير. بالإضافة إلى ذلك، اظهر الزيت الأساسي للزعتر *T. pallescens* تأثيرا طاردا مقارنة مع الزيت الأساسي ل *C. citratus* مع قيم تراوحت من 41.27% إلى 100%. في اختبارات الجسم الحي، كان احتمال البقاء على قيد الحياة 99.9% وانخفض إلى 2.48% في الحشرات المعرضة للزيت الأساسي للزعتر *T. pallescens* و 36% في الحشرات المعالجة بالزيوت الأساسية ل *C. citratus* علاوة على ذلك، أظهرت البيانات أن علاج الحشرات البالغة من *S. granarius* كان له تأثير على مستويات التمثيل الغذائي. قلل كلا الزيتين الأساسيين من مستويات البروتينات، الكربوهيدرات والدهون. تظهر البيانات التي تم الحصول عليها أن تركيبات الزيوت الأساسية يمكن اعتبارها بدائل فعالة لمبيدات الحشرات الكيميائية لمكافحة الآفات للمنتجات المخزنة بطريقة مستدامة بيئياً.

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
--------------------	---

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel biologiques	3
1.1. Matériel animal	3
1.2. Matériel végétal	3
2. Extraction des huiles essentielles	4
3. Test biologiques	4
3. 1. Test d'évaluation de l'effet répulsif des huiles essentielles.....	4
3. 2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact	5
3. 3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation	6
3. 4. Test <i>in vivo</i> et calcul de la relation temps de mortalité-probabilité de survie.	6
4. Effet des huiles essentielles sur le profil métabolique des insectes traitées	6
4. 1. Dosage des protéines	7
4. 2. Dosage des glucides	8
4. 3. Dosage des lipides	9
5. Expression des résultats	10
5.1. Calcul de la mortalité	10
5.2. Correction de la mortalité	10
5.3. Détermination de la DL_{50}	10
6. Analyse statistiques	10

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Résultats	12
1.1. Test répulsif	12
1.2. Effet toxique des huiles essentielles sur la population de <i>S.granarius</i> par contact direct	14
1.3. Effet toxique des huiles essentielles sur la population de <i>S. granarius</i> par inhalation	14

1.4. Détermination de la dose létale 50 par contact et par inhalation des huiles essentielles	16
1.5. Test <i>in vivo</i> et relation temps-mortalité	16
1.6. Effet des huiles essentielles sur les variations quantitatives des réserves énergétiques	21
1.6.1. Effet sur les protéines	21
1.6.1. Effet sur les taux des lipides	21
1.6.1. Effet sur les taux des glucides	22
2. Discussion.....	22
Conclusion	27
Références bibliographiques	29

LISTE DES FIGURES

Figure 1. L'espèce <i>Sitophilus granarius</i> et les dégâts sur le blé dur	3
Figure 2. Photos de deux espèces végétales utilisées dans cette étude a) <i>T.pallescens</i> et b) <i>C.citratus</i> (.....)	4
Figure 3. Schéma récapitulatif représente le dosage des protéines selon la technique de Bradford (1976).....	7
Figure 4. Schéma récapitulatif représente le dosage des glucides selon la technique de Van Handel (1985a) et Bozdoğan et al. (2016)	8
Figure 5. Schéma récapitulatif représente le dosage des lipides selon la technique de Van Handel (1985a) et Bozdoğan et al., (2016).....	9
Figure 6. Variation des taux de mortalité corrigée chez les adultes de <i>S. granarius</i> exposés aux huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par inhalation.....	13
Figure 7. Variation des taux de mortalité corrigée chez les adultes de <i>S. granarius</i> exposés aux huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par inhalation.....	13
Figure 8. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> sur les populations de <i>S. granarius</i>	15
Figure 9. Représente la DL 50 pour les individus de <i>S. granarius</i> traités avec les différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>	16
Figure 10. Courbes de la probabilité de survie des adultes de <i>S. granarius</i> exposés à l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> et <i>T. pallescens</i> , estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier.....	17
Figure 11. LT 50 pour les individus de <i>S. granarius</i> traités avec les huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus in vivo</i>	17
Figure 12. Variation des taux de des protéines chez les adultes de et <i>S. granarius</i> exposés aux huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation.	18
Figure 13. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des protéines chez les individus de <i>S. granarius</i> traités par les différentes concentrations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>	18
Figure 14. Variation des taux de des lipides chez les adultes de et <i>S. granarius</i> exposés aux huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C.citratus</i> par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne± erreur standard.....	19

Figure 12. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des lipides chez les individus de <i>S. granarius</i> traités par les huiles essentielles de <i>T. palleescens</i> et <i>C. citratus</i>	19
Figure 13. Variation des taux de des glucides chez les adultes de et <i>S. granarius</i> traités avec les huiles essentielles de <i>T. palleescens</i> et <i>C.citratus</i> par contact et par inhalation.	20
Figure 14. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des glucides chez les individus de <i>S. granarius</i> traités par les huiles essentielles de <i>T. palleescens</i> et <i>C. citratus</i>	20

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Pourcentage de répulsion (PR) selon le classement de MC Donald et al., (1970).....	5
Tableau 2. Effet répulsifs sur les adultes de <i>S. granarius</i> exposés aux formulations des huiles essentielles de <i>T. palleescens</i> et <i>C. citratus</i>	12
Tableau 3. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées <i>T. palleescens</i> et <i>C. citratus</i> sur les populations de <i>S. granarius</i>	12

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage
< : Inférieur de
ANOVA : Analyse de la variance
Cm : Centimètre
CCLS : Coopératives de stockage des céréales et des légumes secs
C. citratus : *Cymbopogon citronnelle citratus*
CL₅₀ : Concentration létal
C° : Celsius
DL₅₀ : Dose létale 50
FAOSTAT: Food and Agriculture Organization of the United nations Statistics
G.L.M : Modèle général linéaire
g : Gramme
G-250 : Bleu de Coomassie
GC-MS: Gas Chromatography-Mass Spectrometry
h : Heure
H₂SO₄ : Acide sulfurique
HE : Huile essentielle
HEs : Huiles essentielles
IgG : Immunoglobuline G bovine
Kg : Kilogramme
L : Litre
LT :
log : Logarithme
MC : Mortalité corrigée
mg : Milligramme
ml : Militer
min : Minute
mM : Milli molaire
mg/mL : Milligramme par millilitre
nm : Nanomètre
µL / mL : Microlitre par millilitre
µg/mL : Microgramme par millilitre
µl : Microlitre
Na₂SO₄ : Sulfate de sodium
OE : Oil essential
PH₃ : Phosphine
PR : Pourcentage de répulsion
S. granarius : *Sitophilus granarius*
Tris-HCl : C₄H₁₁NO₃
TM : Taux de mortalité
LT₅₀ : Temps de survie moyens
T. pallescens : *Thymus Pallescens*
T. confusum : *Tribolium confusum*
T. castaneum : *Tribolium castaneum*
v : Volume

INTRODUCTION

Introduction

Les céréales représentent une ressource importante assurant la consommation humaine et l'alimentation animale (Rosentrater et Evers 2018). Elles détiennent la première place quant à l'occupation des surfaces agricoles, dont 70 % de ces terres agricoles mondiales sont emblavées en céréales (Riley *et al.*, 2009, FAOSTAT 2018). Les céréales en général, le blé en particulier constituent la principale base du régime alimentaire pour le consommateur algérien (Djermoun, 2009).

La production de céréales est saisonnière, mais sa consommation est continue (Keskina et Ozkaya 2015 ; Rosentrater et Evers 2018). De ce fait, le stockage est un moyen de garantir le lien entre la récolte intervenant une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Proctor 1994, Waongo *et al.*, 2013). Malheureusement, des pertes énormes de grains de céréales sont causées par les mauvaises conditions de stockage. De ce fait, la connaissance et la maîtrise des techniques de stockage des céréales est essentielle (Multon 1982).

Plusieurs facteurs biotiques et abiotiques peuvent affecter la quantité et la qualité des céréales stockées. Les insectes nuisibles sont le plus souvent considérés comme la principale cause des pertes de grains de céréales (Keskina et Ozkaya 2015). Lors du stockage, les pertes de céréales peuvent atteindre 50 % de la récolte totale dans certains pays (Fornal *et al.*, 2007). Dans ce cadre, il existe plus de 1663 espèces d'insectes liées aux produits stockés (Hagstrum et Subramanyam 2016). Les coléoptères représentent le principal groupe de ravageurs des produits stockés, dont environ 200 espèces ont été associées à des problèmes de stockage (Bell 2011). Parmi les coléoptères, le charançon des grains, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera : Curculionidae) est l'un des insectes les plus de structures des grains stockés dans le monde. Ce dernier est capable de causer des pertes économiques très importantes (Keskina et Ozkaya 2015 ; Vélez *et al.*, 2017, Plata-Rueda *et al.*, 2018). Elle affecte la quantité et la qualité des grains de céréales, ainsi que la détérioration de la capacité de germination des graines par son grand potentiel et sa capacité biotique à pénétrer dans la masse des grains (Benelli *et al.*, 2012 ; Plata-Rueda *et al.*, 2018). De plus, il ouvre en plus l'accès à un ensemble complet d'espèces détritivores, dont la plus fréquente est le *Tribolium* de la farine *Tribolium castaneum* (Herbst).

Le contrôle des insectes des produits stockés, y compris *S. granarius*, dans le monde entier dépend principalement de l'application d'insecticides et de fumigants organophosphorés et pyréthroïdes tels que la phosphine (PH₃) (Arthur 1996 ; Zettler et Arthur 2000 ; Isman 2006 ; Aulicky et Stejskal 2015). Néanmoins, l'utilisation des insecticides chimiques conventionnels est efficace, mais il existe plusieurs problèmes tels que la toxicité pour les organismes non cibles, la contamination résiduelle des produits, la toxicité élevée pour les manipulateurs,

Introduction

l'émergence de nouveaux ravageurs et l'émergence des populations résistantes dues à des applications indiscriminées (Camaroti *et al.*, 2018 ; Gong et Ren 2020). L'augmentation de la résistance de nombreux insectes de stockage, y compris *S. granarius*, à différents insecticides tels que la de Itaméthrine, le malathion, le tétrachlorvinphos, le fénitrothion et la phosphine a été décrite (Tyler et Binns 1981 ; Kljajic et Ilija 2005). Cependant, la résistance de diverses populations d'insectes nuisibles est désormais le facteur le plus restrictif de la lutte chimique, conduisant à une efficacité diminuée (Denholm et Devine 2013).

Ces effets indésirables ont accru la nécessité de produits plus sélectifs et biodégradables ; l'inclusion de biopesticides peut réduire l'utilisation d'insecticides dans les entrepôts (Isma *et al.*, 2011). Ces derniers temps, le développement d'insecticides biologiques est devenu une stratégie durable de lutte antiparasitaire (Isman *et al.*, 2011 ; Marsin *et al.*, 2020). Les substances d'origine naturelle et plus particulièrement les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative pour la protection des produits alimentaires stockés. Ces insecticides naturelles présentent plusieurs avantages par rapport aux composés chimiques, car elles sont plus biodégradables, à faible toxicité pour les êtres humains, maximisant l'activité insecticide ; et il existe toutes les possibilités de maintenir les conditions environnementales à l'intérieur des systèmes de stockage (Lengai *et al.*, 2020).

Les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques peuvent fournir des alternatives appropriées pour la gestion des insectes ravageurs des céréales stockées. Plusieurs espèces, de diverses familles végétales, ont été établies comme étant capables de gérer les espèces d'insectes ravageurs qui affectent les produits stockés, en particulier *S. granarius* (Campolo *et al.*, 2018 ; Trivedi *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2020). Cependant, il existe un manque de travaux expérimentaux conçus sur les effets des huiles essentielles et leur mode d'action sur *S. granarius*.

L'objectif principal de ce travail consiste à évaluer l'efficacité insecticide par contact et par inhalation de deux huiles essentielles formulées *Thymus pallescens* (Poaceae) et *Cymbopogon citratus* (Poaceae) contre un ravageur des céréales stockées *S. granarius*. Dans ce travail nous nous sommes intéressés par l'efficacité insecticide des huiles essentielles d'une part et leur mode d'action sur le métabolisme de l'insecte d'autre part. De ce fait, une étude complémentaire a été réalisée afin de mieux comprendre l'effet des huiles essentielles sur les teneurs en glucides, protéines et lipides des insectes traités.

CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel animal

L'étude a porté sur les adultes de *Sitophilus granarius*, ces derniers ont été prélevés à partir des graines de blé déjà infestées. Les échantillons ont été récupérés à partir des aires de stockage appartenant aux coopératives de stockage des céréales et des légumes secs (CCLS) de Bordj Bou Arreridj. Les échantillons ont été menés au laboratoire et tamisés afin de récupérer et identifier les insectes adultes. L'identification de l'espèce *S. granarius* a été faite par SAI Bilal ; Ingénieur en protection des végétaux responsable des aires de stockage au niveau de CCLS de BBA (Ain Tassara).



Figure 1. L'espèce *Sitophilus granarius* et les dégâts sur le blé dur (Originale, 2021).

L'élevage de cette espèce ravageuse a été effectué dans des boîtes en plastique mesurant 20×30 ×15cm, contenant 1Kg de mélange de blé/riz selon les volumes (1v :1v). Ces boîtes ont été infestées par 40 individus (20 mâles et 20 femelles), et placées dans un incubateur avec les conditions favorables de température et d'humidité (25±3°C et 75% d'humidité). Les tests de l'effet insecticides ont été effectués sur des individus âgés de 15 jours.

1.1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par deux espèces médicinales et aromatiques à savoir le thym (*Thymus palleescens*) et la citronnelle (*Cymbopogon citratus*). Ces deux espèces ont été collectées à partir des régions de Mascara et Alger pendant le stade floraison.

La partie aérienne des plantes tests a été lavée par l'eau distillée stérile et séchée à l'obscurité dans un endroit bien aéré à une température ambiante pendant 21 jours. Les feuilles séparées du reste de la plante sont conservées dans des sachets kraft propres à 4°C jusqu'au moment de l'extraction.

1.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée sur les feuilles de *T. pallescens* et *C. citratus* par un hydrodistillateur de type clevenger (Clevenger, 1928). Cette technique consiste à mettre en ébullition 200g de feuilles sèches pendant 3h avec 1 L d'eau dans un ballon de 2 L surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. L'huile essentielle récupérée est conservée à 4 °C dans des flacons fermés hermétiquement bien soutenue par un papier aluminium est conservée à 4 °C.



Figure 2. Photos de deux espèces végétales utilisées dans cette étude (a *T. pallescens* et b *C. citratus*) (Moutassem 2020).

1.2. Tests biologiques

1.2.1. Test d'évaluation de l'effet répulsif des huiles essentielles

L'effet répulsif des huiles essentielles vis-à-vis les adultes de *S. granarius* a été évalués selon la technique décrite par McDonald *et al.* (1970) en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre.

Dans cette expérience, les disques de papier filtre de 9 cm de diamètre utilisés à cet effet ont été divisés en deux parties égales. Cinq teneurs différentes en huile essentielle ont été utilisées dans ce test : 20, 40, 60, 80, et 100 µl/ml. À l'aide d'une micropipette, une quantité de 0,5 mL de chaque dose a été mis sur une moitié de disque, tandis que l'autre moitié a reçu uniquement de l'acétone. Les deux disques ont été disposés sous la haute chimique pendant dix minutes, afin d'évaporer l'acétone. Après séchage de l'acétone, les deux moitiés de disque ont été ressoudées au moyen d'une bande adhésive ou un scotch. Le disque de papier filtre a été placé dans une boîte de Pétri de 9cm de diamètre. Un lot de dix individus de *S. granarius* ont été placés au centre de papier filtre, sur la bande adhésive. Les boites sont placées dans les

conditions ambiantes de température pour calculer la valeur de pourcentage de répulsion pour chaque huile essentielle. Le pourcentage de répulsion est ainsi calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de répulsion (PR\%)} = \left(\frac{NC - NT}{NC}\right) \times 100$$

Où : **NC** : nombre de l'individu présent sur la partie du disque traitée uniquement avec l'acétone
NT : nombre de l'individu présent sur la partie du disque traitée avec la dose préparée

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile est calculé (PR) et attribué à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V (MC Donald *et al.*, 1970).

Tableau 1. Pourcentage de répulsion (PR) selon le classement de MC Donald *et al.*, (1970).

Classe	Intervalle de répulsion	Propriété de la substance traitée
Class 0	PR ≤ 0,1%	Non répulsive
Class I	0,1 < PR ≤ 20%	Très faiblement répulsive
Class II	20 < PR ≤ 40%	Faiblement répulsive
Class III	40 < PR ≤ 60%	Modérément répulsive
Class IV	60 < PR ≤ 80%	Répulsive
Classe V	80 < PR ≤ 100%	Très répulsive

1.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact

Les essais de toxicité par contact ont été réalisés selon un protocole précédemment décrit par Tapondjou *et al.* (2005). Pour l'évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *T. pallens* et *C. citratus* ont été formulées par l'acétone. Dans ce cadre, 5 doses ont été préparées par la dilution de 5 concentrations à savoir 1, 2, 5, 10 et 20 µL dans 0.5mL de l'acétone. Les huiles essentielles formulées ont été appliquées sur les disques de papier filtre de 9 cm de diamètre en utilisant 1mL pour chaque concentration.

Les disques de papier filtres traitées ont été laissés à l'air libre pendant deux minutes, afin d'évaporer l'acétone. Un lot de dix adultes de *S. granarius* âgées de 15 jours a été introduit dans les boites de pétri contenant le papier filtre traitées avec l'huile essentielle. Les insectes témoins ont été maintenus dans les mêmes conditions sans les huiles essentielles et avec seulement de l'acétone. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque traitement. Les taux de mortalité ont été enregistrés 24 h après le traitement et corrigés à l'aide de la formule d'Abbott (1925). Les insectes étaient considérés comme morts lorsqu'aucun mouvement n'était enregistré.

1.2.3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation

La toxicité des huiles essentielles par fumigation a été évaluée contre les adultes *S. granarius* selon une technique précédemment décrite par Abdelgaleil *et al.* (2016). Des bocaux en verre de 1 L ont été utilisés comme des chambres de fumigation. Dans cet essai, les huiles essentielles brutes ont été utilisées suivant les concentrations 10, 20, 30, 40 et 50 µL/L d'air. Des papiers filtres (Whatman n° 1) ont été découpés en morceaux de 9 mm de diamètre ont été chargés de l'huile essentielle, fortement posés sur les dessous des bouchons à vis des bocaux.

L'intérieur des flacons a été brossé avec de la vaseline afin éviter le contact direct entre les insectes et l'huile essentielle. Les bouchons contenant le papier filtre traité ont été fortement vissés sur les bocaux contenant un lot de Dix adultes de *S. granarius*. La couverture était bien scellée avec du parafilm pour éviter l'évaporation de huiles essentielles. Les insectes témoins ont été maintenus dans les mêmes conditions avec du papier filtre apposé sans huiles essentielles. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque traitement. Les taux de mortalité ont été enregistrés après 24 h de traitement et corrigés à l'aide de la formule d'Abbott (1925).

1.2.4. Test *in vivo* et calcul de la relation temps de mortalité-probabilité de survie

Ce test a été réalisé pour étudier l'effet de la toxicité de l'évaporation des huiles essentielles sur les adultes de *S. granarius*. Nous avons utilisé des boîtes en plastique, chaque bocal contient 1Kg de blé dur. Les boîtes contenant le blé ont été contaminées avec un lot de 100 individus de *S. granarius*. Les traitements des boîtes par les huiles essentielles ont été effectués selon la technique de Moutassem *et al.* (2021). Des flacons de 1 mL de volume ont été chargés avec l'huile essentielle brute. Ces flacons sont caractérisés par des bouchons perforés permettant l'évaporation constante et lente des huiles essentielles. Les témoins ont été disposés dans les mêmes conditions sans traitement avec les huiles essentielles. Ces bocaux sont placés à l'étuve réglée à 30.5 °C pendant deux mois. Chaque 48h une vérification de l'état des insectes disposés au niveau des boîtes traitées et non traitées. Un calcul de nombre total d'insecte ainsi que le nombre total de mortalité dans chaque traitement.

1.3. Effet des huiles essentielles sur le profil métabolique des insectes traitées

Pour mesurer les protéines, les lipides et la teneur totale en glucides, des insectes adultes ont été traités avec les différentes concentrations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*. Les insectes témoins utilisés dans cette expérience étaient des insectes qui ont subi une mort naturelle. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque analyse.

1.3.1. Dosage des protéines

Pour l'extraction et la quantification des réserves de protéine des insectes traités avec les huiles essentielles, la technique de Blue de Coomassie G-250 (100 mg) de Bradford (1976) a été utilisée. Une quantité de 1 g de bleu de Coomassie a été dissoute dans 50 ml d'éthanol (95 %), et 100 ml de l'acide phosphorique à 85 % (p/v). La solution résultante a été diluée à un volume final de 1 L.

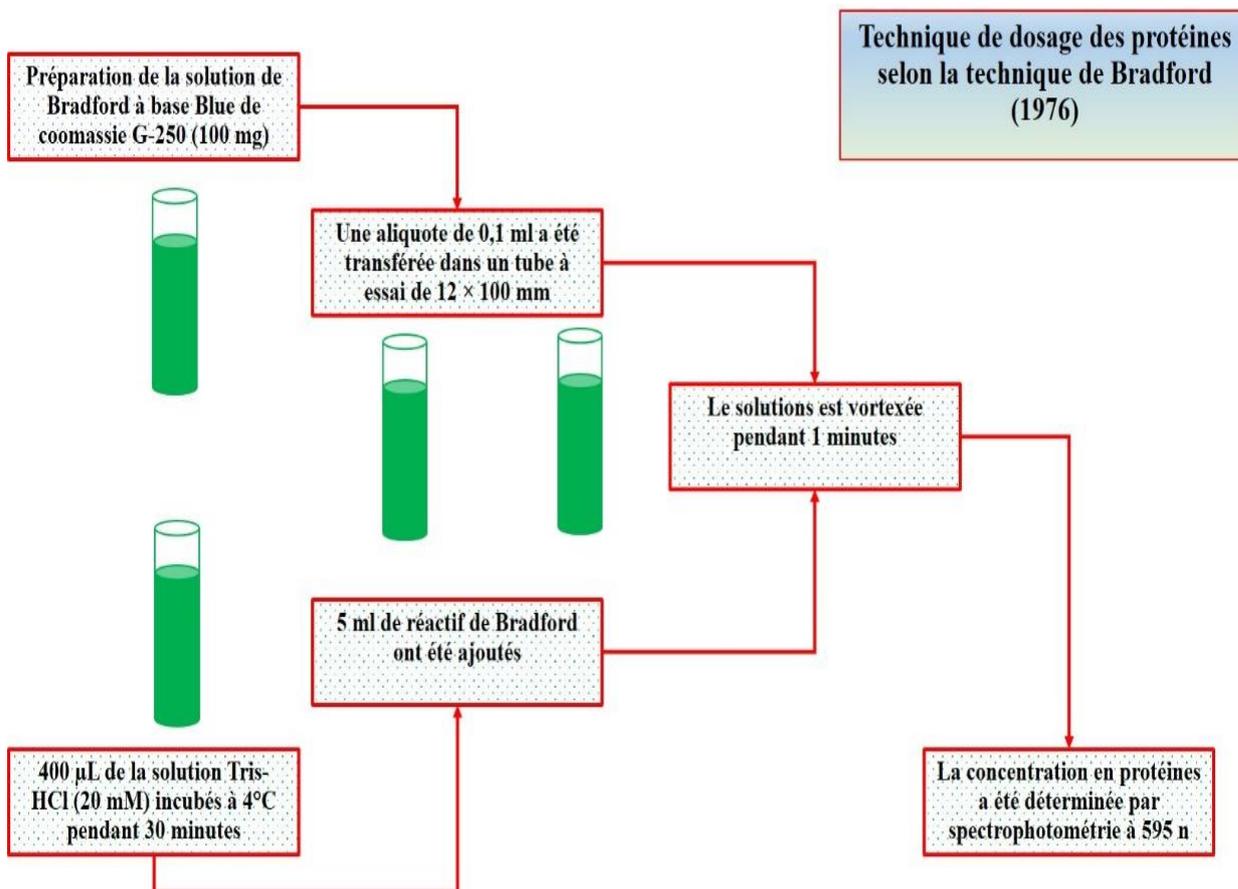


Figure 3. Schéma récapitulatif représente le dosage des protéines selon la technique de Bradford (1976).

Après avoir écrasés les insectes dans 400 µL de la solution Tris-HCl (20 mM), les échantillons ont été incubés à 4°C pendant 30 minutes pour permettre aux protéines de se dissoudre. Une aliquote de 0,1 ml a été transférée dans un tube à essai de 12 × 100 mm, 5 ml de réactif de Bradford ont été ajoutés au tube à essai et le contenu a été mélangé par vortex. La concentration en protéines a été déterminée par spectrophotométrie à 595 nm.

Les concentrations de protéines de chaque échantillon ont été déterminées par rapport à une courbe standard construite en utilisant 125, 250, 500, 1 000 et 2 000 µg d'immunoglobuline G bovine (IgG) dissous dans le même tampon que les échantillons. Avant la lecture, les plaques ont été doucement agitées pendant 5 secondes pour séparer les agrégats de protéines.

1.3.2. Dosage des glucides

Pour l'extraction et la quantification des glucides totaux, les méthodes de la solution d'anthrone décrites précédemment par Van Handel (1985a) et Bozdoğan *et al.* (2016) a été utilisée. La Solution d'anthrone a été préparée par la dissolution de 750 mg d'anthrone dans 150 mL d'eau bidistillée et 380 ml de l'acide sulfurique H₂SO₄ concentré. La solution de sulfate de sodium à 2% (Na₂SO₄) a été préparée par l'addition de 2 g de Na₂SO₄ dans 100 mL de l'eau bidistillée. La solution d'attaque composée de mélange Chloroforme/Méthanol (1/2) a été préparée par le mélange de 10mL de chloroforme et 20 ml de méthanol. Ce mélange a été disposé dans un flacon bien agités par la suite, hermétiquement scellés et stockés.

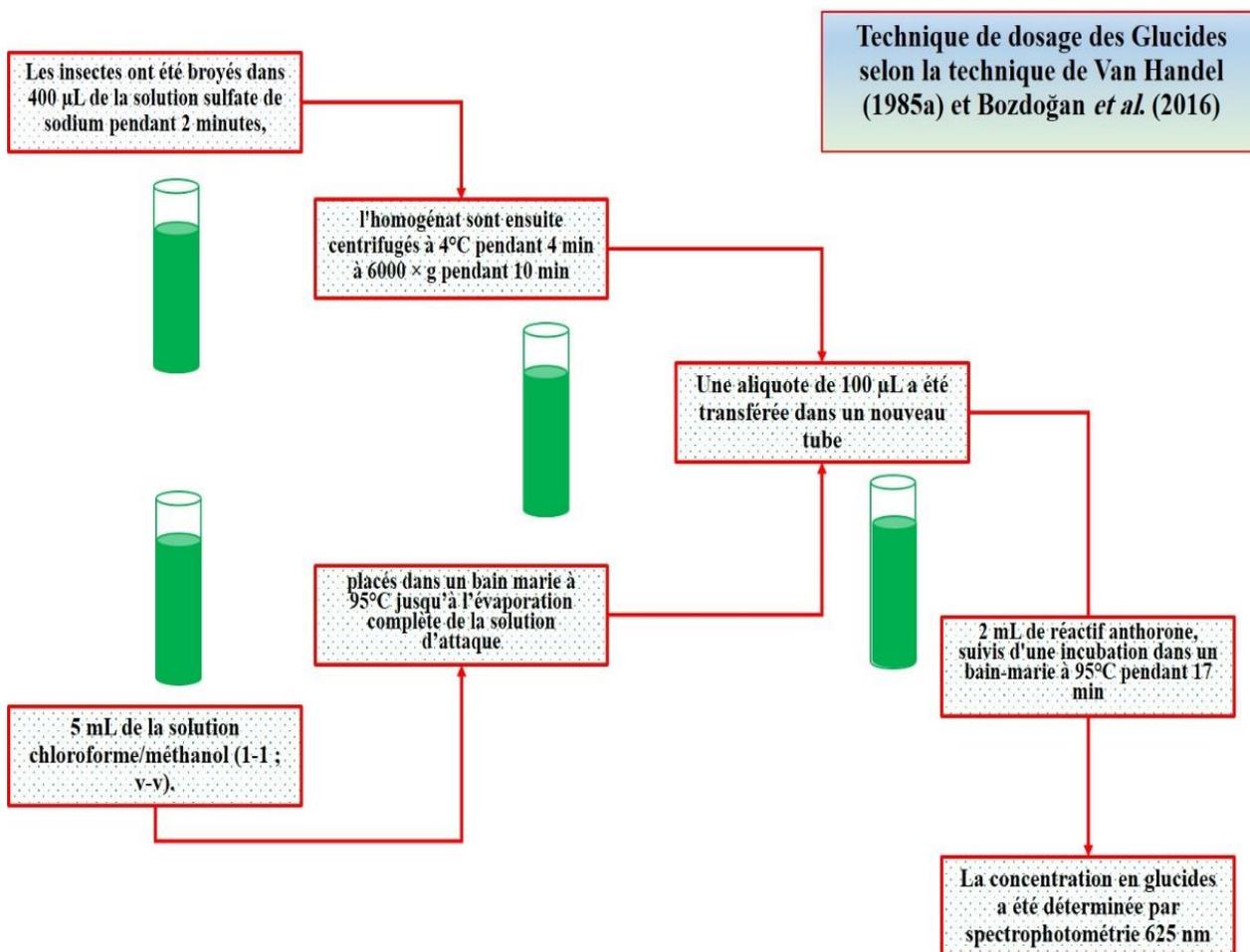


Figure 4. Schéma récapitulatif représente le dosage des glucides selon la technique de Van Handel (1985a) et Bozdoğan *et al.* (2016).

Les insectes ont été broyés dans 400 µL de la solution sulfate de sodium pendant 2 minutes, suivi par l'addition de 5mL de la solution chloroforme/méthanol (1-1 ; v-v). Les tubes contenant l'homogénat sont ensuite centrifugés à 4°C pendant 4 min à 6000 × g pendant 10 min. Une aliquote de 100 µL a été transférée dans un nouveau tube de 12 × 75 mm, placés dans un bain marie à 95°C jusqu'à l'évaporation complète de la solution d'attaque.

Les tubes ont été laissés refroidis, puis amendés par 2 mL de réactif anthrone, suivis d'une incubation dans un bain-marie à 95°C pendant 17 min. Les tubes ont ensuite été placés dans un bain de glace à 10 min et la densité optique à 625 nm a été mesurée. Pour les glucides, une courbe d'étalonnage a été générée à l'aide d'une solution d'étalon de glucose (1 g/L). Le blanc était une solution de glucose à 0,5 mg/ml (5 mg de glucose dans 10 ml d'eau distillée). Une série de dilutions a été effectuée pour obtenir les concentrations de glucose suivantes : 10, 20, 40, 60, 80, 100 et 200 µg/mL.

1.3.3. Dosage des lipides

L'effet des huiles essentielles sur les teneurs en lipides des a été déterminé à l'aide des méthodes décrites par Van Handel (1985b) et Plaistow *et al.* (2003).

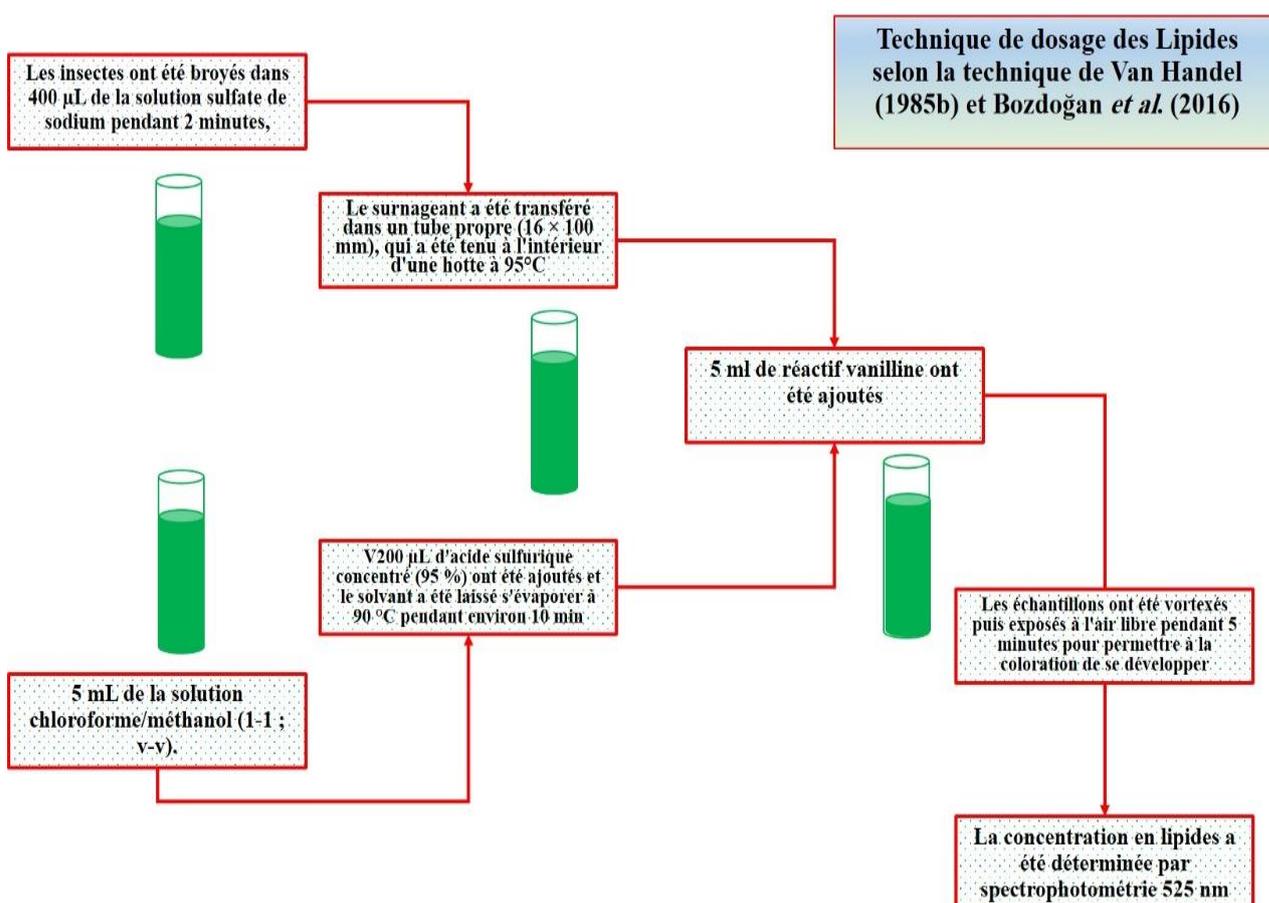


Figure 5. Schéma récapitulatif représente le dosage des lipides selon la technique de Van Handel (1985a) et Bozdoğan *et al.*, (2016)

La préparation de la solution de la Vanilline-acide phosphorique : 600 mg de vanilline ont été dissous dans 100 ml d'eau chaude et 400 mL de 85 % l'acide phosphorique bien agitée et conservé à l'obscurité. Les insectes ont été broyés dans 400 µL de solution de

chloroforme/méthanol (1:2, v:v). Le surnageant a été transféré dans un tube propre (16 × 100 mm), qui a été tenu à l'intérieur d'une hotte à 95°C au bain-marie pour permettre au solvant restant de s'évaporer. Ensuite, 200 µL d'acide sulfurique concentré (95 %) ont été ajoutés et le solvant a été laissé s'évaporer à 90 °C pendant environ 10 min.

L'échantillon a été retiré du bain marie, laissé refroidir, et 5 mL de réactif vanilline ont été ajoutés. Les échantillons ont été vortexés puis exposés à l'air libre pendant 5 minutes pour permettre à la coloration de se développer. La densité optique de chaque échantillon a été mesurée à 525 nm lue après 25 minutes. La concentration en lipides pour chaque échantillon a été déterminée par rapport à une courbe standard construite en utilisant 25, 50, 100, 200, 400, 800 et 1200 µg d'huile végétale commerciale.

1.4. Expression des résultats

1.4.1. Calcul de la mortalité corrigée

Les taux de mortalités (TM) ont été exprimés selon la formule d'Abbott (1925) en mortalités corrigées (MC%), tenant compte des mortalités naturelles observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante :

$$MC\% = ((M - Mt) * 100) / (100 - Mt)$$

Mc : la mortalité corrigée.

M : pourcentage de morts dans la population traitée.

Mt : pourcentage de morts dans la population témoin

1.4.2. Détermination de la DL₅₀

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL₅₀ qui représente la dose conduisant à la mort de 50% des individus d'un même lot. La méthode de Finney (2009) et Ndomo (1971) basée sur la régression des probités des mortalités en fonction des logarithmes des doses d'huile essentielle a permis de déterminer la DL₅₀.

1.4.3. Analyse statistiques

Le modèle Général linéaire (G.L.M) a été utilisé pour analyser les valeurs de la mortalité corrigées (MC%) et la quantification des biomarqueurs énergétiques. Le MC% a été soumis à une analyse de probité pour obtenir des valeurs de DL₅₀ avec leurs limites de confiance. Les données corrigées de la mortalité et des biomarqueurs énergétiques des insectes pour les tests de contact et de fumigation ont été soumises séparément à une analyse factorielle de la variance (ANOVA). La comparaison des moyennes a été effectuée à l'aide du test post hoc de Tukey au niveau de probabilité de 5 %.

Chapitre I. Matériel et méthodes

Les données des essais biologiques temps-mortalité (survie) ont été soumises à une analyse de survie non paramétrique à l'aide d'estimateurs de Kaplan-Meyer pour obtenir les courbes de survie et les estimations du temps de survie médian (LT_{50}). Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique R Studio 1.2.5019-R version 3.6.1.

CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre II. Résultats et Discussion

2. Résultats

2.1. Test répulsif

L'analyse de la variance ANOVA affectée par G.L.M montre un effet très hautement significatif de l'huile essentielle ($P=0,000$), la dose ($P=0,000$) ainsi que l'interaction entre l'huile essentielle et la dose ($P=0,000$) sur le taux de la répulsion (tableau 2). Les résultats obtenues montre que les deux huiles essentielles ont un effet répulsif très prononcé (tableau 1) alors que l'huile essentielle de *T. pallescens* a également constatée très répulsif comparée avec celle de *C. citratus* (Figure 3).

Tableau 1. Effet répulsifs sur les adultes de *S. granarius* exposés aux formulations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*. Les résultats représentent la Moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

Dose (μ L)	<i>T. pallescens</i>		<i>C. citratus</i>	
	Effet répulsif	Classe	Effet répulsif	Classe
125	100 \pm 00,00a	Classe V	100 \pm 00,00a	Classe V
100	84,26 \pm 4,66a	Classe V	79,63 \pm 4,63a	Class IV
75	84,26 \pm 4,67a	Classe V	84,26 \pm 4,76a	Classe V
50	79,63 \pm 4,63a	Class IV	44,44 \pm 6,92b	Class III
25	41,27 \pm 7,94b	Class III	41,27 \pm 7,94b	Class III

Tableau 2. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées *T. pallescens* et *C. citratus* sur les populations de *S. granarius*. Les **, ***indiquent une différence significative entre les moyennes à $P < 0.01$ et $P < 0.001$.

		SS	ddl	MS	F	P
Contact	HE	403	1	403,3	24,2	,000*
	Dose	3320	4	830	49,8	,000*
	HE*Dose	613	4	153,3	9,2	,000*
Inhalation	HE	6453	1	6453	23,9	,000*
	Dose	5167	4	1292	4,78	,007*
	HE*Dose	647	4	162	0,6	0,668
Répulsif	HE	476	1	476	5,64	,028*
	Dose	1,19E+04	4	2966	35,18	,000*
	HE*Dose	1902	4	476	5,64	,003*

Chapitre II. Résultats et Discussion

Les résultats affichés sur le (tableau 1) exposent également un effet répulsif très remarquable de la formulation de *T. pallescens* par les concentrations 125, 100 et 75 μL . Cependant, un effet très répulsif a été remarqué avec la concentration de 50 μL , tandis que la dose de 25 μL montre un effet modérément répulsif.

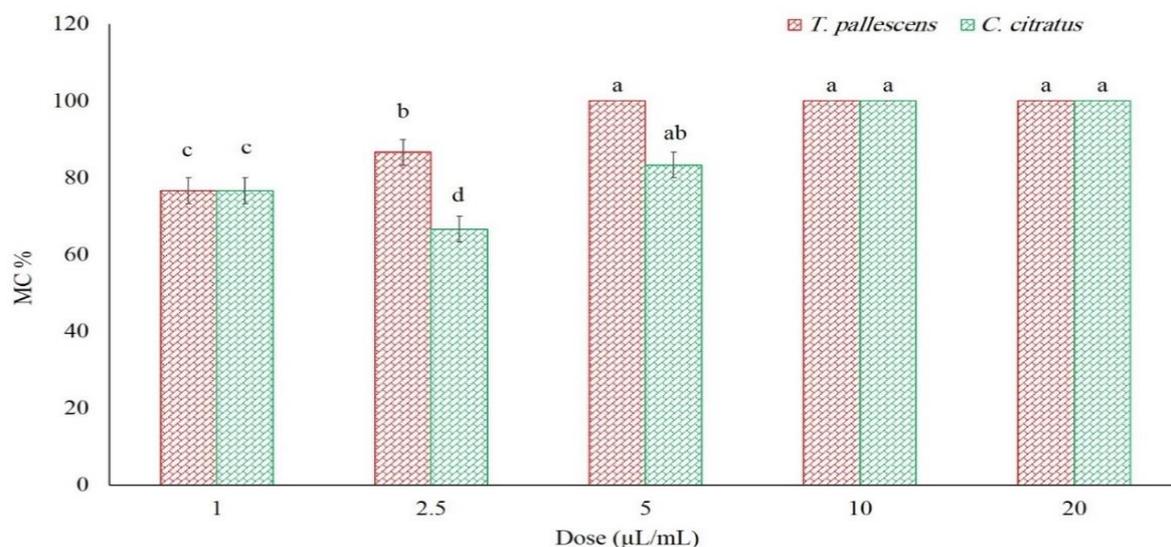


Figure 6. Variation des taux de mortalité corrigée chez les adultes de *S. granarius* exposés aux différentes doses des formulations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact. Les résultats représentent la Moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

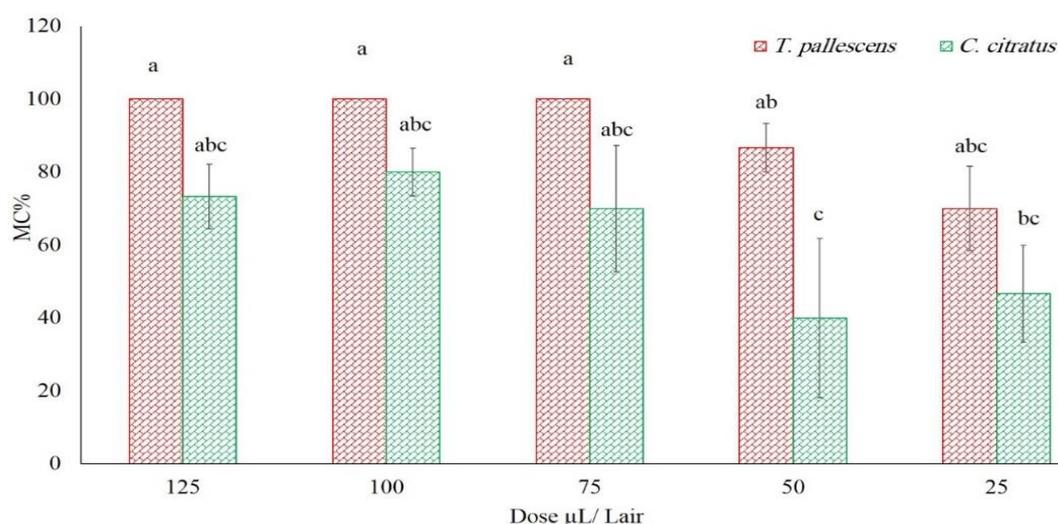


Figure 7. Variation des taux de mortalité corrigée chez les adultes de *S. granarius* exposés aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par inhalation. Les résultats représentent la Moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

Chapitre II. Résultats et Discussion

La formulation de l'huile essentielle à base de *C. citratus* présente une activité répulsive très notable contre *S. granarius* mais moins exprimée en comparaison avec celle de *T. pallescens*. L'analyse des données affichées sur le (tableau 1) indiquent un effet très répulsif de l'huile essentielle de *C. citratus* avec les concentrations 125 μL . Par contre, cette formulation est avérée faiblement répulsive pour la dose 25 μL .

2.2. Effet toxique des huiles essentielles sur la population de *S.granarius* par contact direct

L'analyse de la variance ANOVA a montré un effet très hautement significatif de l'huile essentielle et de la dose sur le MC% de *S. granarius*. L'analyse de G.L.M a mis en évidence que les l'huile essentielles de *T. pallescens* est le plus efficace, par ailleurs les concentrations de 5, 10 et 20 sont les effectives (Figure 3). L'analyse des données montre effectivement que l'efficacité des huiles essentielles testées est dose dépendante, elle augmente significativement avec l'augmentation de la dose. En effet, la dose la plus faible 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ a montré un taux de MC% environ 76.67% pour les deux huiles essentielles après 24h d'exposition. Par ailleurs, les doses de 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ ont montré un taux de MC% total pour les deux huiles essentielles après la même période d'exposition.

La toxicité de l'huile essentielle de *C. citratus* sur les adultes de *S. granarius* a montré une MC% de 66.67% avec la dose de 2.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, ces taux de mortalités augmentent avec les doses de (5,10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$) avec un pourcentage de 83.33% jusqu'au 100% après 24h d'exposition.

2.3. Effet toxique des huiles essentielles sur la population de *S. granarius* par inhalation

Les formulations des huiles essentielles à base de *T. pallescens* et *C. citratus* ont été évaluées à différentes doses 125, 100, 75, 50 et 25 $\mu\text{L}/\text{L}$ air pour leur pouvoir insecticide par inhalation contre le ravageur *S. granarius*.

Les résultats obtenus exposent que les deux formulations ont manifesté des effets insecticides très remarquable sur la population de *S. granarius*, dont l'intensité de la MC% varie selon le type de l'huile et la dose appliquée. Les résultats de l'analyse des données par le modèle G.L.M affichés sur le (Tableau 2) à mis en évidence un effet très hautement significatif de l'huile essentielle ($P=0.000$), la dose, ainsi que l'interaction entre ces deux facteurs sur les populations de ravageur traitées.

Dans ce contexte, la formulation de l'huile essentielle de *T. pallescens* est la plus efficace comparée avec celle de *C. citratus*, bien que la dose de 125 $\mu\text{L}/\text{L}$ air soit la plus effective pour les deux formulations (Figure 4). Les résultats obtenus indiquent autrement que le taux de mortalité augmente au fur et à mesure l'augmentation de la concentration (Figure5). L'huile

Chapitre II. Résultats et Discussion

essentielle de *T. pallescens* a dénudé un taux de MC% avec environ 100% par les trois concentrations 125, 100 et 75 μ L/L air. Par ailleurs, elle est de 70% pour la concentration de 25 μ L/L air.

En effet, les tests insecticides par inhalation ont montré que la formulation de l'huile essentielle de *C. citratus* à une activité insecticide très remarquable, dont l'intensité d'efficacité varie en fonction la dose. A cet effet, l'application de l'huile essentielle de *C. citratus* contre la population de *S. granarius* montre une MC% de 80% par la concentration 100 μ L/L air. Cependant, cette valeur diminue avec la diminution de la concentration et devient environ 40% avec la concentration 50 μ L/L air.

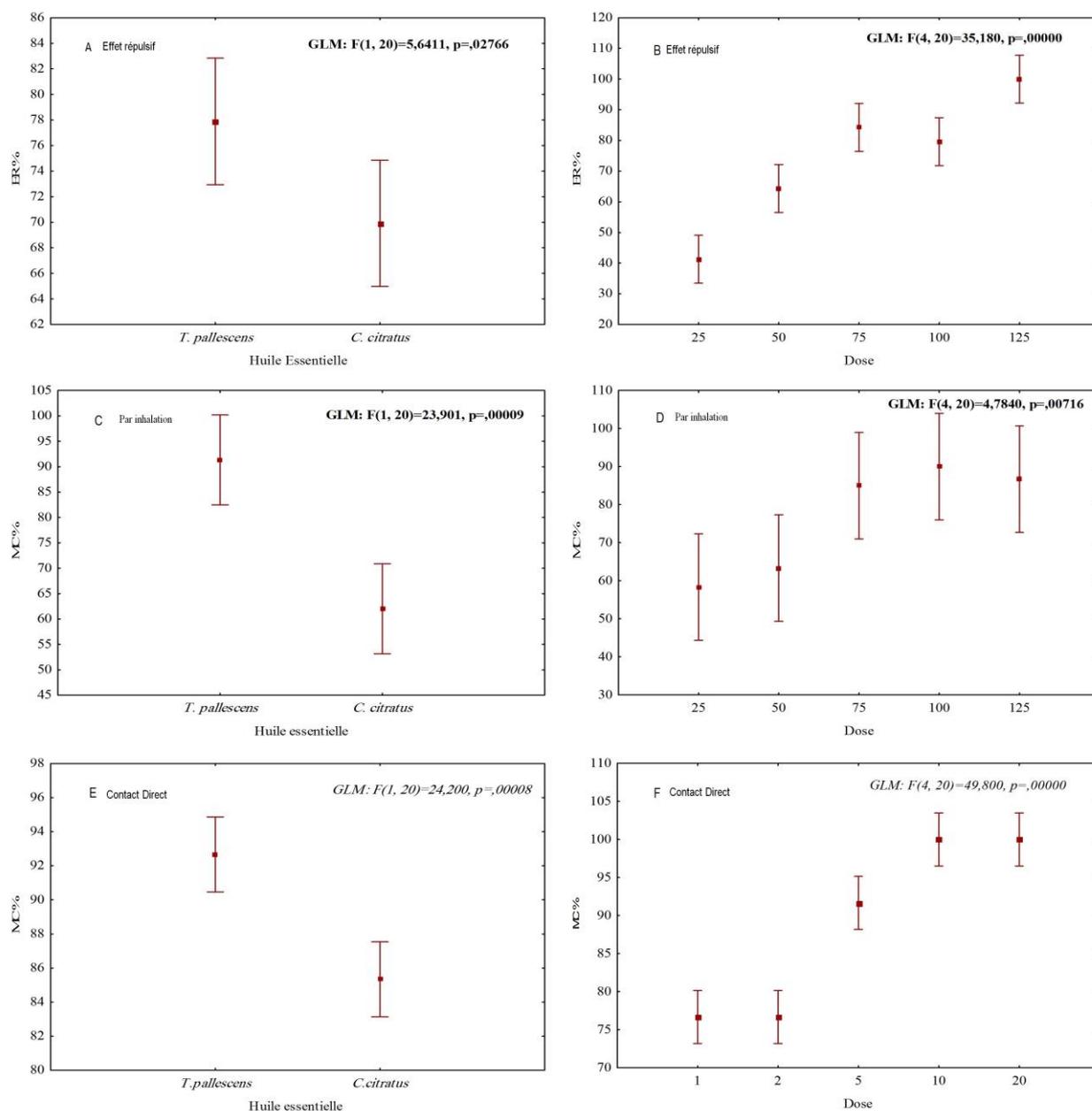


Figure 8. G.L.M. appliquées aux essais de traitement à base des huiles essentielles étudiées *T. pallescens* et *C. citratus* sur les populations de *S. granarius*.

2.4. Détermination de la dose létale 50 par contact et par inhalation des huiles essentielles

La dose létale 50% de la population de *S. granarius* est calculée par la méthode des probités (Finney 1971). Les pourcentages de la mortalité sont transformés en probité, la régression du logarithme de la dose en fonction des probités des mortalités à l'aide de logiciel R a permis de déterminer la dose létale 50 pour chaque huile essentielle .

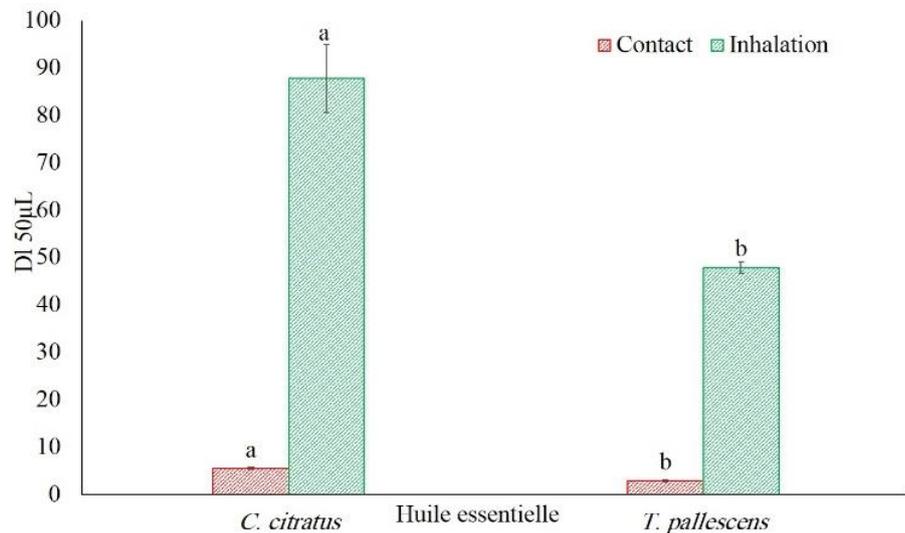


Figure 9. Représente la DL₅₀ pour les individus de *S. granarius* traités avec les différentes concentrations de l'huile essentielle de *T. pallescens* et *C. citratus*. Les résultats représentent la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b...indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

Les résultats affichés sur la (Figure 6) montrent que l'huile essentielle de *T. pallescens* est le plus efficace par contact direct contre *S. granarius* avec une DL₅₀ de 2.89 µL/mL et par inhalation où nous avons constaté une DL₅₀ de l'ordre de 47.89% µL/L air. Cependant, l'huile essentielle de *C. citratus* révèle une DL₅₀ de 5.5 µL/mL par contact direct et 87.81% µL/L air par inhalation.

2.5. Test *in vivo* et relations Temps – mortalité

Dans les tests *in vivo*, le taux de survie a été déterminé pendant 20 jours après l'exposition des individus de *S. granarius* aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* (figure 7A). La probabilité de survie est varié significativement avec l'huile essentielle (test du log-rank, $\chi^2 = 124.9$, $df = 2$; $P < 0.001^*$). Les résultats obtenus exposent que la probabilité de survie de *S. granarius* a diminué de 99.9 % jusqu'à 0 % avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de 23 % avec celle *C. citratus*. Bien que, les temps de survie moyens (LT₅₀) de la population de *S. granarius* traitées avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et *C. citratus* étaient de 11.58 et 15.85 jours, respectivement (Figure 7B).

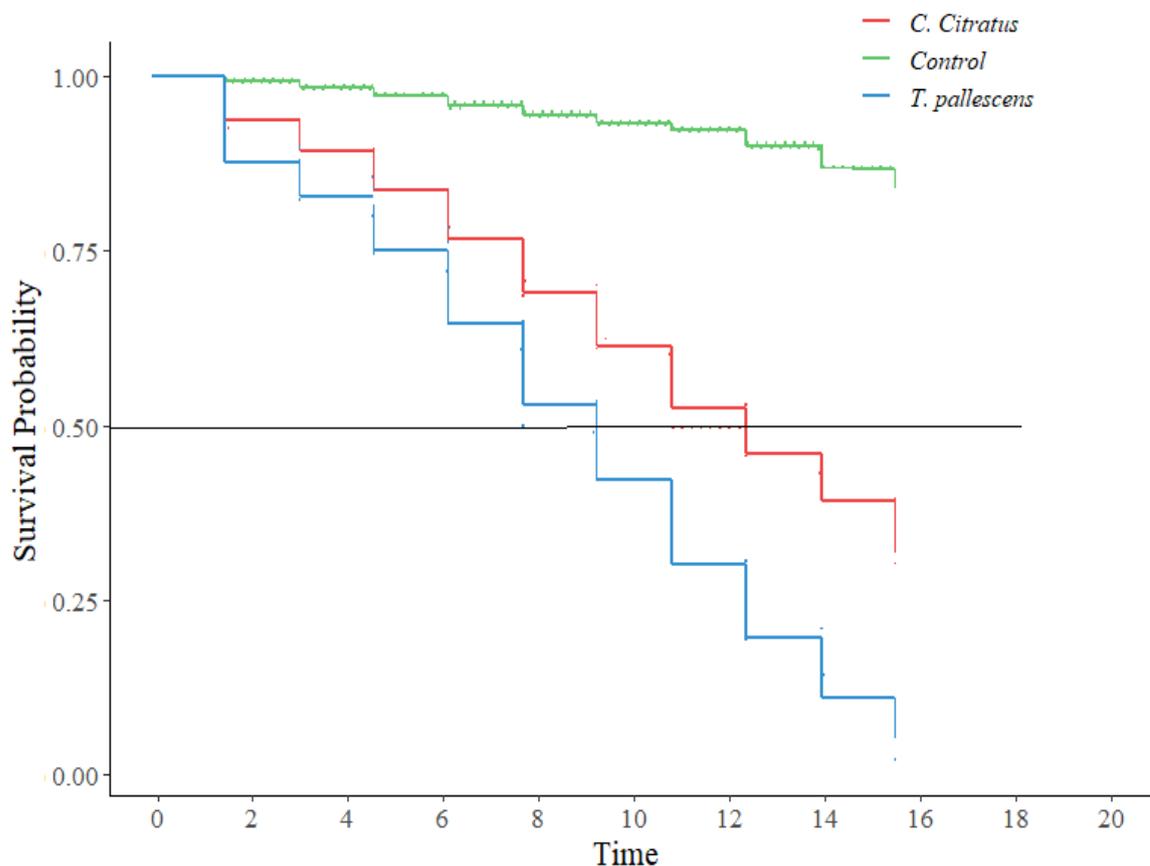


Figure 10. Courbes de la probabilité de survie des adultes de *S. granarius* exposés à l'huile essentielle de *C. citratus* et *T. pallescens*, estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier.

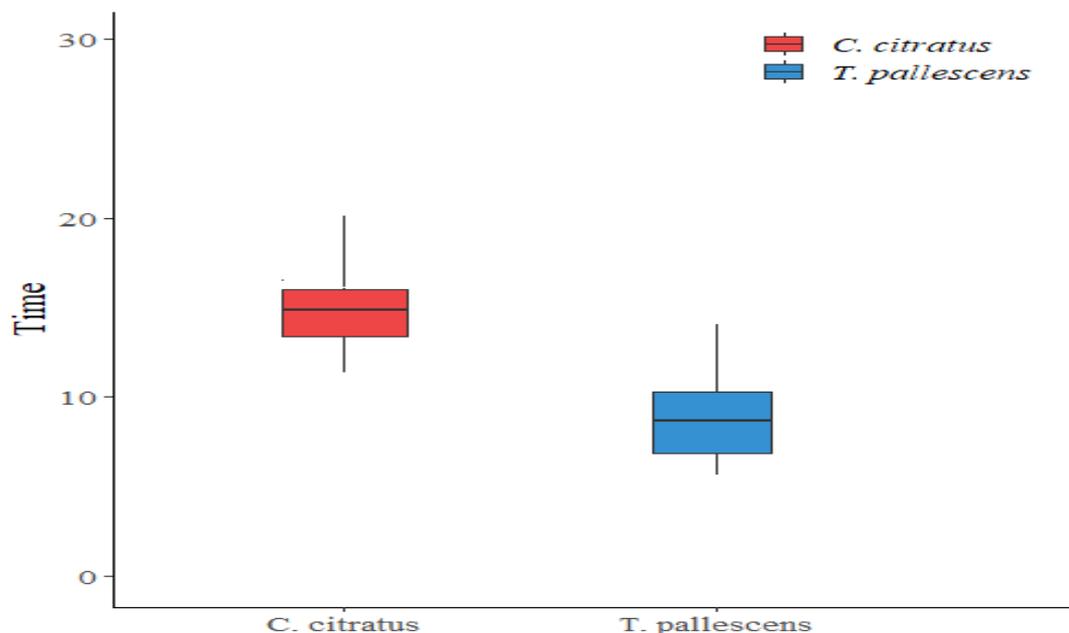


Figure 11. LT₅₀ pour les individus de *S. granarius* traités avec les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* *in vivo*.

Chapitre II. Résultats et Discussion

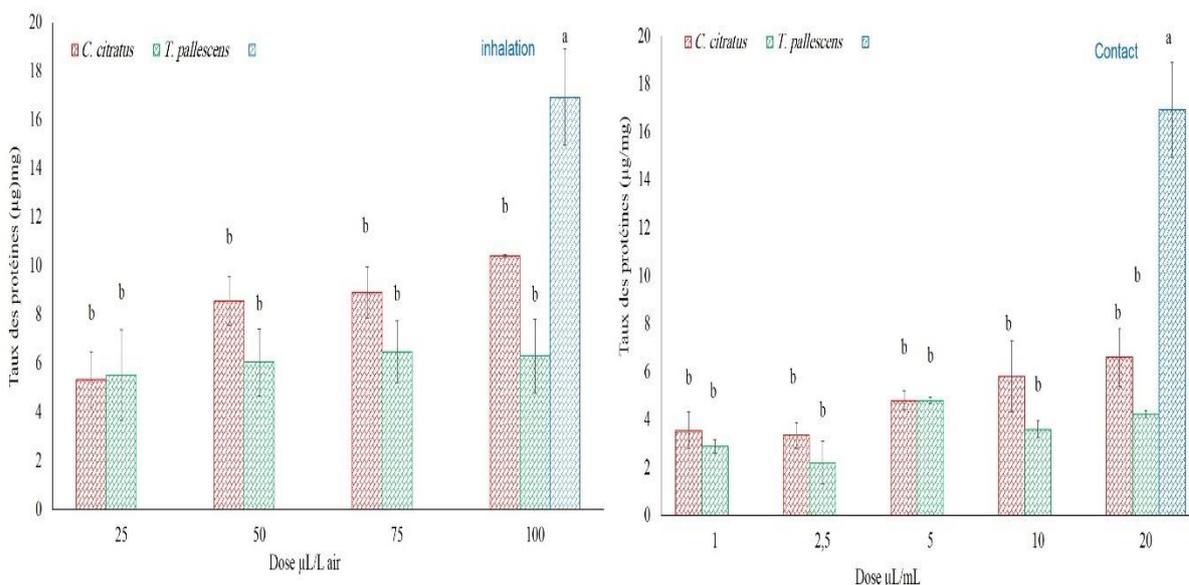


Figure 12. Variation des taux de des protéines chez les adultes de et *S. granarius* exposés aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($P \leq 0.05$).

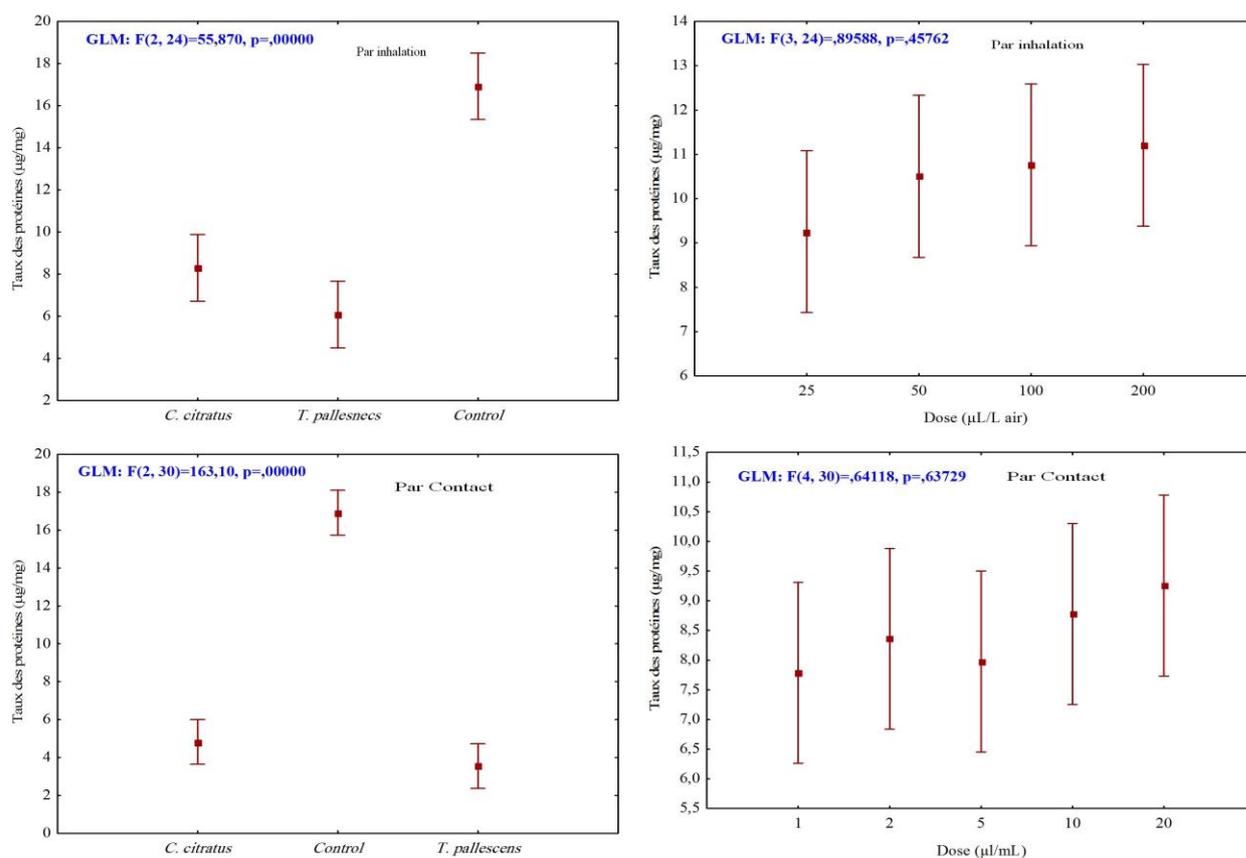


Figure 13. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des protéines chez les individus de *S. granarius* traités par les différentes concentrations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*.

Chapitre II. Résultats et Discussion

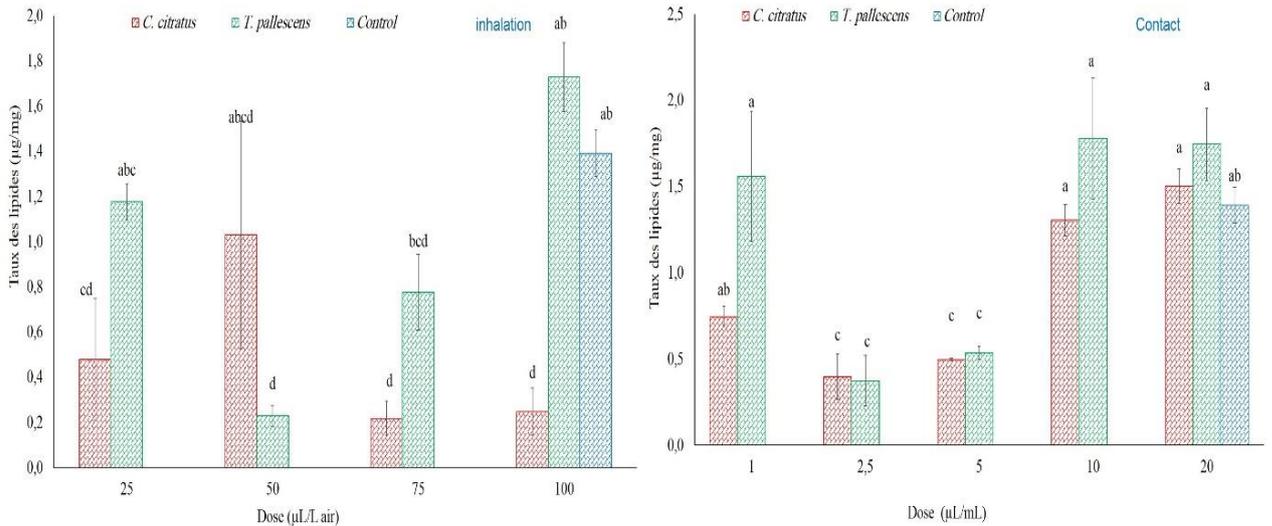


Figure 14. Variation des taux de des lipides chez les adultes de et *S. granarius* exposés aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b indiquent la différence significative à une probabilité ($P \leq 0.05$).

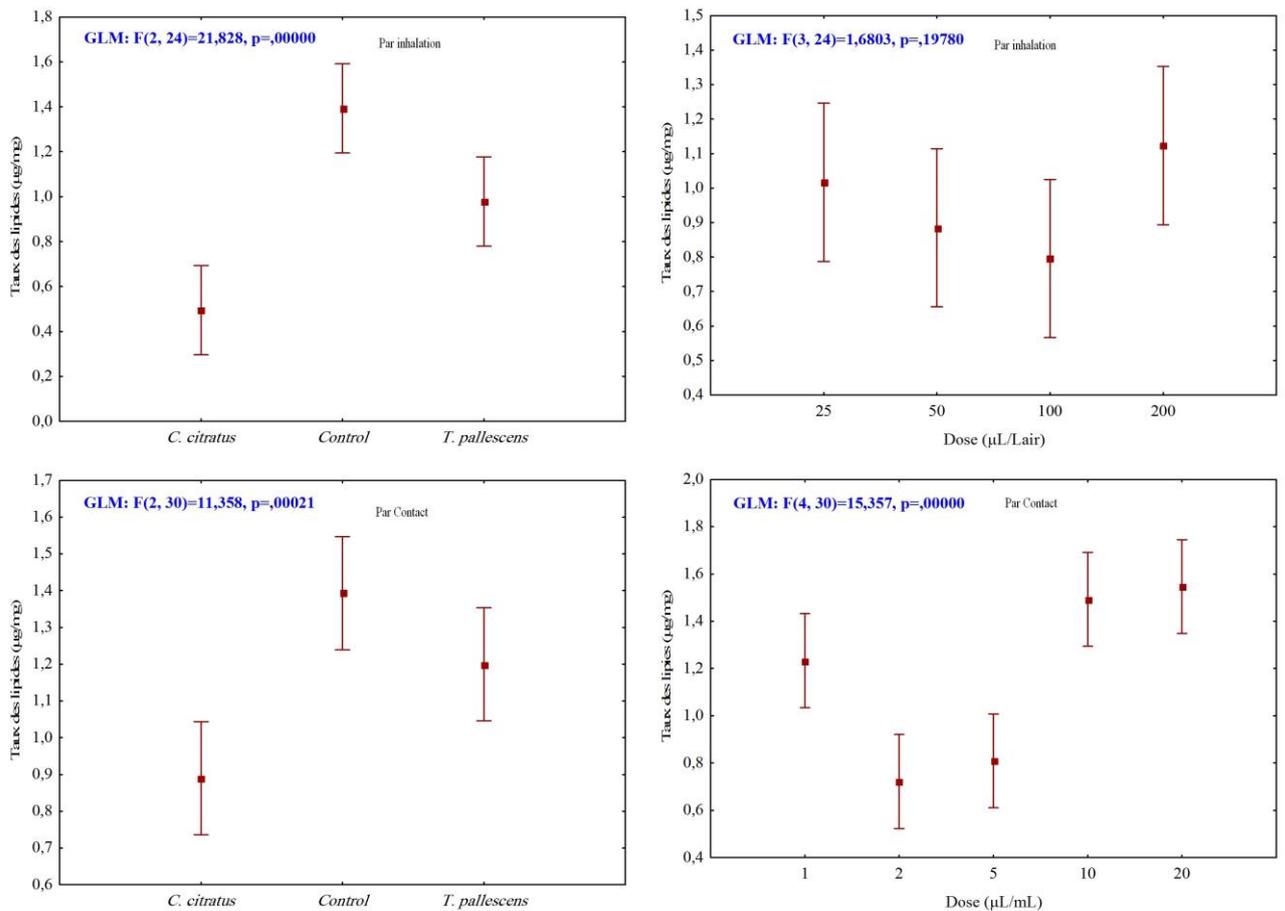


Figure 15. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des lipides chez les individus de *S. granarius* traités par les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*.

Chapitre II. Résultats et Discussion

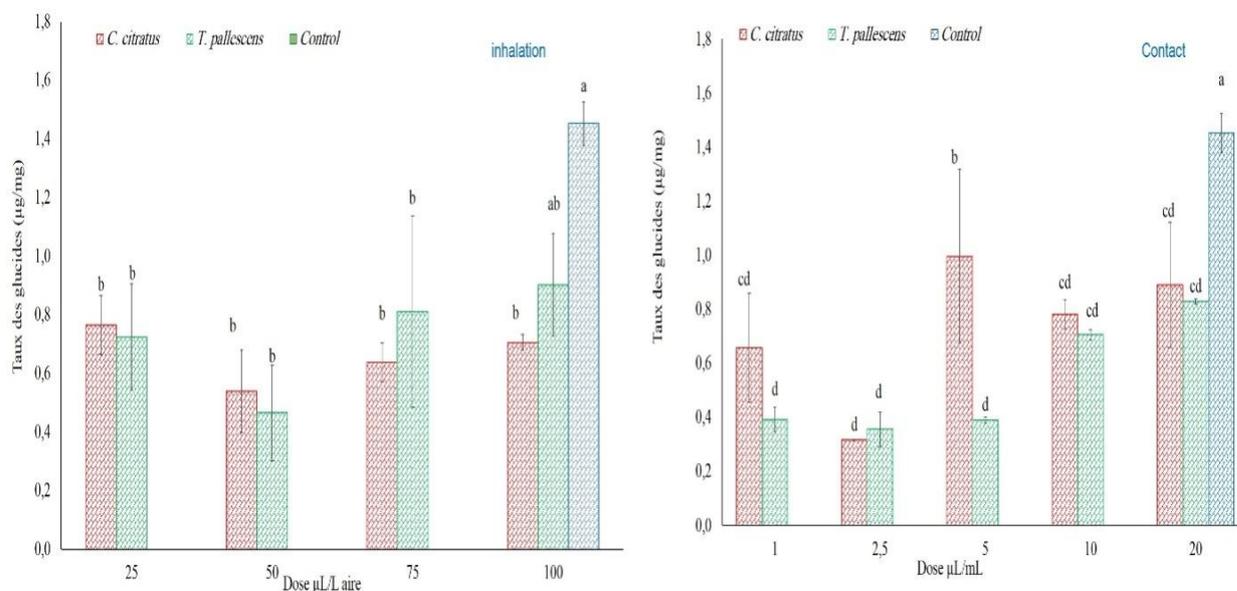


Figure 16. Variation des taux de des glucides chez les adultes de et *S. granarius* traités avec les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($P \leq 0.05$).

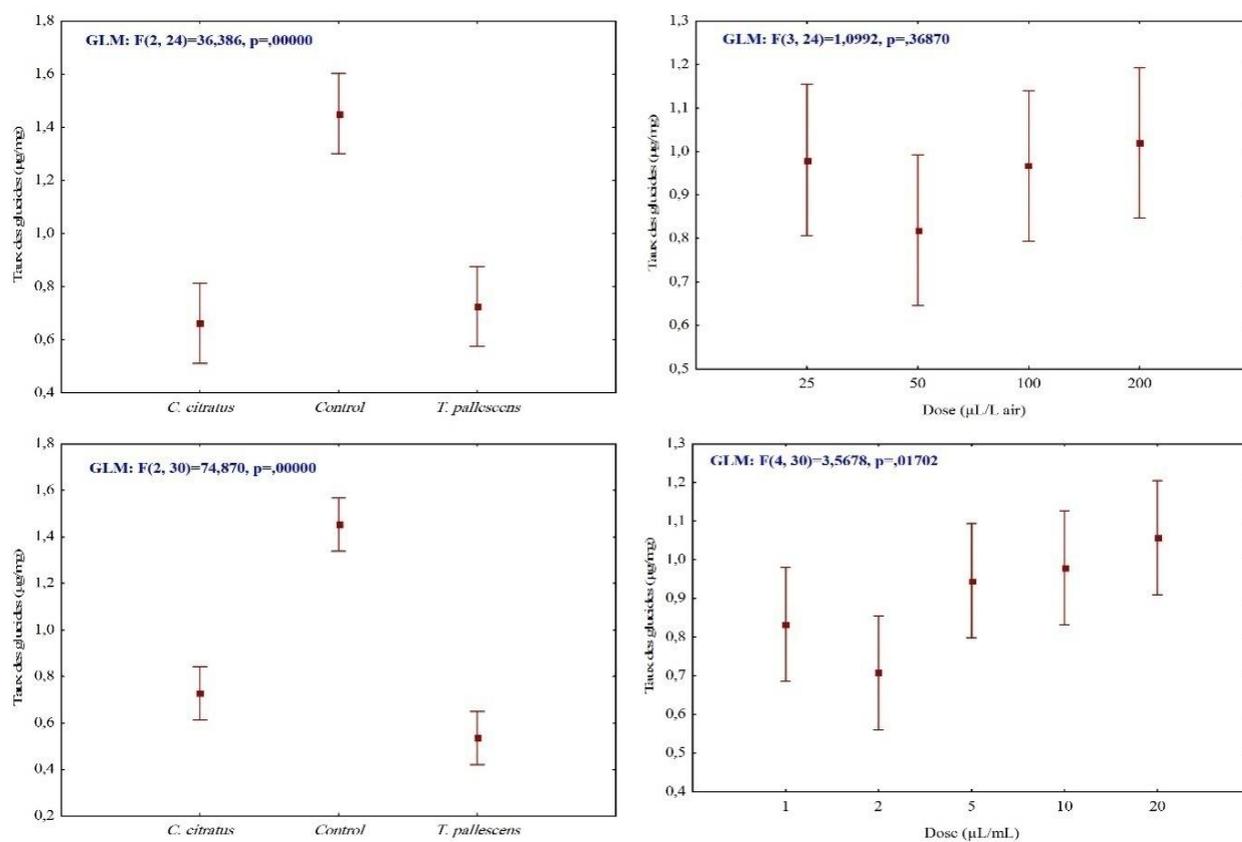


Figure 17. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des glucides chez les individus de *S. granarius* traités par les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*.

2.6. Effet des huiles essentielles sur les variations quantitatives des réserves énergétiques

2.6.1. Effet sur les protéines

Les résultats obtenus montrent que les teneurs protéiques sont nettement diminués chez les individus de *S. granarius* traités par l'huile essentielle de *T. pallescens* et *C. citratus* soit par inhalation ou bien par contact. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA a montré l'existence d'une différence très hautement significative de l'huile essentielle ($F(2,30)=163,10$; $P=0,0000$), la dose ($F(4,30)=64,118$; $P=63,729$) et l'interaction entre les facteurs huiles essentielle*dose sur le taux des protéines.

Par ailleurs, les valeurs de diminution les plus élevées sont observées chez la population traitée par contact direct avec l'huile essentielle de *T. pallescens* (Figure 11). Pareillement, le taux de diminution augmente significativement avec l'augmentation de la concentration. Les résultats des traitements affichés sur la figure indiquent une diminution significative qui varie entre 71.60 et 86.98% chez les individus traités avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et entre 38.55 à 68.52% pour ceux traités avec l'huile essentielle de *C. citratus* (Figure 12).

2.6.2. Effet sur le taux des lipides

Les analyses ANOVA indiquent un effet très hautement significatif de l'huile essentielle ($F(2,30)=11,358$; $P=0,0000$) et de la dose ($F(4,30)=15,357$; $P=0,0000$) sur les teneurs des lipides chez les adultes de *S. granarius* traités avec les différentes concentrations des huiles essentielles. Les G.L.M effectuées sur les taux de variation des lipides révèlent une diminution très notable chez la population traitée par inhalation et par contact avec l'huile essentielle de *C. citratus* comparée avec l'huile essentielle de *T. pallescens*.

Les résultats indiqués sur la figure montrent une diminution qui varie entre 46.36% jusqu'à 63% pour la population de *S. granarius* traitée avec l'huile essentielle de *C. citratus* et entre 15.51 jusqu'à 83.46% pour la population traitée avec l'huile essentielle de *T. pallescens*, par contact direct et par fumigation.

2.6.3. Effet sur le taux des glucides

Les teneurs en lipides ont été diminués significativement chez les individus de *S. granarius* traités par inhalation et par contact avec les deux formulations des huiles essentielles. Les G.L.M ont indiqué que les huiles essentielles ($F(2,30)=74,870$; $P=0,0000$) ainsi que la dose ($F(4,30)=3,5678$; $P=0,1702$) affectent significativement le taux des glucides chez la population de *S. granarius* traitée avec les deux formulations des huiles essentielles. L'analyse des résultats affichés sur les graphes de la (figure13) indiquent une diminution des taux des glucides variables entre 47.30 et 62.89% pour les individus traités par inhalation avec l'huile

Chapitre II. Résultats et Discussion

essentielle de *C. citratus*. En outre, une baisse dans les teneurs en glucides chez les populations traitées par contact avec la formulation de *T. pallescens* qui varie entre 37.84 et 67.94%.

3. Discussion

Dans cette étude, les effets répulsifs et insecticides des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* contre *S. granarius* ont été déterminés. Les résultats obtenus indiquent que les deux huiles essentielles ont une activité répulsive et insecticide très prononcés avec des taux variables selon l'huile essentielle, la dose ainsi que le mode d'application. L'huile essentielle formulée à base de *T. pallescens* est avérée la plus efficace comparée avec l'huile de *C. citratus*. Nos résultats indiquent la sensibilité de insectes cibles au mode contact mieux que le mode inhalation. Bien que l'efficacité insecticide est dose dépendantes pour les deux huiles essentielles, elle augmente avec l'augmentation de la concentration.

Le pouvoir répulsif et insecticide et les différences observées dans la toxicité des huiles essentielles soit par contact direct au par inhalation sont attribuées pour sa composition et sa richesse en composés bioactifs d'une part et de leurs variabilités en fonction des espèces végétales d'autre part. Il est cependant clair qu'elles interviennent directement sur la morphologie ou la physiologie de l'organisme nuisible. Nos résultats sont analogues à ceux abstenus par plusieurs chercheurs sur la même espèce et mêmes d'autres espèces ravageuses (Kordali *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2010; Kordali *et al.*, 2012; Ziaee *et al.*, 2014; Germinara *et al.*, 2015 ; Plata -Rueda *et al.*, 2018; Plata-Rueda *et al.*,2020; Gong et Ren 2020; Teke et Mutlu 2020). L'efficacité des huiles essentielles contre les insectes en générales et *S. granarius* en particulier est principalement due à sa composition chargée par des constituants caractérisés par leurs activités insecticides et répulsives. Alors que, les différences observées dans l'efficacité sont attribués aux différents composés bioactifs et à leur variabilité, en fonction l'espèce végétale d'origine. La littérature a confirmé que plusieurs composés chimiques ayant un large spectre d'effets répulsifs et toxiques, notamment les phénols (1,8 cinéole et carvacrol), les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol et linalol), les aldéhydes, les cétones (camphre et citronellal) et les hydrocarbures monoterpéniques (camphène, α -pinène et p-cimène) (Prates *et al.*,1998; Kim *et al.*,2010; Oliveira *et al.*,2018; Gong et Ren 2020; Plata-Rueda *et al.*,2020) .

D'après les analyses GC-MS effectuée par Moutassem *et al.* (2019) et Moutassem *et al.* (2021), le carvacrol, le thymol et le linalol sont les composants les plus abondants pour l'huile essentielle de *T. pallescens*, bien que le géraniol, le citronellol et le méthylisoeugénol étaient les composants les plus abondants pour l'huile essentielle de *C. citratus*. Il a déjà été rapporté que ces composés exercent des activités répulsives et toxiques contre les ravageurs des denrées stockés, en particulier sur *S. granarius* (Huang *et al.*, 2002 ; Kim et al., 2010 ; Malacrinò *et al.*,

Chapitre II. Résultats et Discussion

2016 ; Oliveira *et al.*, 2018 ; Chen *et al.*, 2018 ; Benelli *et al.*, 2019 b; Plata-Rueda *et al.*, 2020; Abouelatta *et al.*, 2020). Cependant, la présence des composées mineures pourrait également jouer un rôle aussi déterminant dans les activités répulsives et insecticides (Ehawa Essoung *et al.*, 2020).

Certains auteurs ont avéré que l'activité insecticide de *T. pallescens* est due principalement aux composés majoritaires de cette huile telle que le thymol et le carvacrol. En outre, le thymol a été signalé comme un composant qui exerce un effet analgésique sur les récepteurs $\alpha_1 - \alpha_2$ et β -adrénergiques (Shabnum et Wagay 2011). En effet, le Thymol et le Carvacrol testés individuellement, montrent plus actifs contre les larves d'*Alphitobius diaperinus* que l'huile essentielle de thym (Szczepanik *et al.*, 2012). Cependant, le Carvacrol à une large activité insecticide et affecte les insectes des denrées stockées par inhalation (Ahn *et al.*, 1998 ; Isman 2000). Les propriétés insecticides de 1.8-cinéole, le linalool, l'eugénol, α -terpinéol et le cymol ont été démontrées sur plusieurs insectes tels que *Tribolium confusum* (Coleoptera:Tenebrionidae), *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertadominica* (Coleoptera: Bostrichidae) et *Callosobruchus maculatus*(Coleoptera: Bruchidae) (Obeng-Ofori *et al.*, 1997).

Nos résultats corroborent ceux obtenus par Kordali *et al.* (2006) présentent l'efficacité insecticide de trois espèces d'*Artemisia* et leurs composants, qui présentaient un potentiel de protection des grains des céréales stockés contre les ravages de *S. granarius*. Les résultats obtenus par inhalation et par contact corroborent à ceux obtenus par Benchabane *et al.* (2015). Ces chercheurs ont constaté que l'huile essentielle de *T. pallescens* est efficace par contact sur *Tribolium confusum* provoquant une mortalité totale après 144 heures d'exposition par contact ainsi que par inhalation. Une autre étude menée par Germinara *et al.* (2017) exhibé des activités répulsives et insecticides très remarquables de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* contre les adultes de *S. granarius*. Une étude plus récente effectuée par Plata-Rueda *et al.* (2020) a mis en évidence que l'huile essentielle de la citronnelle et ses constituants à savoir, le citral et l'acétate de géranyle, produisaient une forte activité toxique et répulsive contre les adultes de *U. dermestoides*. Dans les mêmes ordres des idées, les travaux de Guettal *et al.* (2020) ont rapporté un très important pouvoir répulsif (66.5%) et toxique (92.52%) par l'huile essentielle de *Citrus limonum* contre *S. granarius*.

Récemment, Plata-Rueda *et al.* (2018) ont rapporté que les huiles essentielles de la cannelle et de clou de girofle possédaient des activités toxiques et répulsives significatives contre *S. granarius*. En plus, les huiles essentielles dérivées de *Rosmarinus officinalis*, *Laurusnobilis*, *Echinacea purpurea*, *Origanum majorana*, *Ocimum basilicum* et *Foeniculum*

Chapitre II. Résultats et Discussion

vulgare ont montré divers degrés d'effet répulsif et insecticide contre le charançon du blé *S. granarius* (Teke et Mutlu 2020).

Dans la présente étude, les HE du thym et de la citronnelle ont induit une mortalité de *S. granarius in vivo*, et les temps de survie moyens (LT₅₀) étaient respectivement de 11,58 et 15,85 jours après l'exposition. Les effets rapides de ces huiles essentielles contre *S. granarius* indiquent leur potentiel à protéger les produits stockés. Dans ce cadre, ces deux huiles ont des effets comparables à ceux signalés pour les insecticides chimiques de synthèse. Dans ce contexte, des études antérieures effectuées par Vélez *et al.* (2017) ont indiqué que le produit chimique nommé pinosada provoqué un taux de mortalité très important de *S. granarius* et *S. zeamais* avec des LT₅₀ de 12 et 13 jours, respectivement. Nos résultats corroborent ceux obtenus par ceux obtenus par Plata-Rueda *et al.* (2020) rapportent que le taux de survie est très faible après 48 h d'exposition de *S. granarius* à l'huile essentielle de *C. citratus*. Des effets similaires ont été observés lorsque d'autres coléoptères ravageurs des céréales stockées (*Rhyzopertha dominica*, *S. granarius* et *Tribolium castaneum*) exposés à des terpénoïdes d'origines végétales (Prates *et al.*, 1998 ; Huang *et al.*, 2002 ; Plata-Rueda *et al.*, 2018).

Les résultats de l'effet préventif des huiles essentielles de *T. palleescens* et *C. citratus* sont attribués à l'effet insecticide des huiles essentielles contre *S. granarius* par inhalation. Dans cette expérience l'évaporation des huiles essentielles peuvent agir sur tous les stades de développement de l'insecte (Isikber *et al.*, 2006 ; Stamopoulos *et al.*, 2007, Isikber *et al.*, 2009). Ces résultats sont témoignés par les travaux de Stamopoulos *et al.* (2007) indiquent une toxicité directe observée après l'exposition des femelles de *T. confusum* à des concentrations différentes de la vapeur de cinq monoterpinoïdes. Ces travaux ont montré que ces composés ont entraîné une baisse de la fécondité et l'éclosion des œufs. Autrement, les recherches effectuées par Isikber *et al.* (2009) ont démontré la sensibilité des œufs de, à des vapeurs des huiles essentielles de *Cinnamomumzeylanicum*, *Allium sativum* et *Pimpinellaanisum* L. Nos résultats du test préventif exposent l'efficacité de l'huile essentielle de *T. palleescens* comparé avec celle de *C. citratus*. L'étude a montré que chaque huile essentielle a une composition chimique spécifique et agit différemment selon la nature du test attribué (Haouas *et al.*, 2012).

Ces résultats sont expliqués par la richesse de cette huile en composés volatils avec des activités insecticides, larvicides et oficide très prononcées. Dans ce cadre, les recherches de Stamopoulos *et al.* (2007) confirment que le 1,8 cinéole (DL₅₀ comprises entre 3,5 et 466 µl / l d'air) est les plus toxiques pour tous les stades testés contre *T. confusum*, tandis que le monoterpénoïde le moins toxique testé était le géraniol avec des valeurs de CL₅₀ compris entre 607 et 1627 µL / l d'air.

Chapitre II. Résultats et Discussion

La toxicité des huiles essentielles testées, à la fois *in vitro* et *in vivo*, contre *S. granarius* peut être liée aux perturbations des mécanismes biochimiques et physiologiques. Des études antérieures expliquant le mode d'action des huiles essentielles ont montré que ces composés naturels peuvent provoquer des activités neurotoxique, tel que l'hyperactivité, saisies et des tremblements suivis d'une paralysie et la mort de l'insecte qui sont très semblables aux effets produits par les insecticides de type pyréthroïdes (Gaire *et al.*, 2019).

La toxicité des deux huiles essentielles contre *S. granarius* est peut être associée à l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE). Les preuves de cette possibilité proviennent des études antérieures qui ont établi que les différentes huiles essentielles et leurs principaux composants peuvent exercer une forte activité inhibitrice de l'AChE chez diverses espèces d'insectes ravageurs, tel que *S. oryzae* (Abdelgaleil *et al.*, 2016). En outre, il a également été démontré que le carvacrol inhibe l'activité de l'AChE, par la disposition de ce composé sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (Anderson et Coats 2012 ; Tong *et al.*, 2013, Lee *et al.*, 2020).

Le potentiel des huiles essentielles à lutter contre les insectes ravageurs pourrait être dû à la synergie entre les composés et à leurs capacités de pénétrer le corps de l'insecte ou à affecter le système respiratoire de l'insecte (Plata-Rueda *et al.*, 2020). Par conséquent, les effets répulsifs des deux huiles essentielles testées peuvent être expliqués par des perceptions spatiales modifiées par les systèmes olfactifs ou gustatifs (Papachristos et Stamopoulos 2002 ; Germinara *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2018), qui modulent les fonctions des neurones olfactifs de la sensille et la perturbation des récepteurs chimiosensoriels (Ditzen *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2010), stimulant ou incitant la mobilité des insectes (Plata-Rueda *et al.*, 2018).

Les huiles essentielles d'origine végétale peuvent affecter le métabolisme et le développement des insectes par le biais de divers processus biochimiques et physiologiques (Senthil-Nathan 2013). Cette étude a également révélé que l'intensité métabolique de *S. granarius* était fortement affectée par l'exposition aux huiles essentielles de thym et de citronnelle, ce qui démontre un stress physiologique, qui peut expliquer les effets de toxicité des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* contre *S. granarius*. Nous avons constaté que le traitement avec les huiles essentielles a entraîné des diminutions significatives des niveaux de protéines, de glucides et des lipides par rapport à ceux des témoins non traités. Cette diminution de la teneur en protéines pourrait être attribuée à un ou plusieurs facteurs, comme une diminution de la synthèse des protéines ou une augmentation de la dégradation des protéines, pour détoxifier les molécules affectées par les principes bioactifs présents dans les Huiles essentielles (Vijayaraghavan *et al.*, 2010 ; Ranjini *et al.*, 2016).

Chapitre II. Résultats et Discussion

Des résultats similaires ont été obtenus après l'utilisation de huile essentielle de *Citrus limonum* contre *S. granarius* (Guettal *et al.*, 2020). Dans notre étude, la teneur en glucides de l'insecte ravageur testé était significativement diminuée sous le stress biologique exécuté par les huiles essentielles. Les insectes transforment généralement les glucides en lipides et en glycogènes (Sonmez et Gulel 2008), ce qui pourrait expliquer la réduction observée des taux de glucides et l'augmentation des taux de lipides observés chez les insectes traités. Des résultats similaires ont été obtenus chez la population de *S. granarius* traitée avec l'HE de *Citrus limonum* (Guettal *et al.*, 2020) et chez *T. castaneum* et *Callosobruchus maculatus* traités avec les huiles essentielles de cardamome, de cannelle et de muscade (Tarigan et Harahap 2016).

L'augmentation des taux de lipides peut s'expliquer par la mise en place du tégument chez les insectes pour prévenir les effets néfastes des huiles essentielles. La couche protectrice externe des insectes consiste en une couche lipidique imperméable, généralement composée d'alcane, d'alcane à ramification de méthyle et d'alcène (Morgan 2004). Cette couche lipidique est importante pour la prévention de la déshydratation et pour repousser la pluie et chez les insectes sociaux (abeilles, guêpes et termites). L'augmentation des taux de lipides des insectes peut donc refléter l'initiation de mécanismes de résistance au stress des huiles essentielles. Les acides gras sont des métabolites primaires et servent également de source de nombreux métabolites secondaires, tels que les phénols et les quinones (Morgan 2004). Les résultats obtenus sont également en accord avec les observations précédentes montrant que les traitements avec des extraits de plantes de *Lantana camara* ont permis d'augmenter significativement les teneurs en lipides de la processionnaire du pin *Thaumeto peapytiocampa* (Bouzar-Essaidi *et al.*, 2014). Nos résultats différaient des résultats précédents concernant les changements de contenu lipidique suite aux traitements à l'OE (Guettal *et al.*, 2020).

CONCLUSION

Conclusion

La recherche de nouvelles molécules biologiques alternatives aux molécules chimiques plus efficaces et moins polluantes s'avère donc indispensable, ainsi l'utilisation de formulations à base des plantes aromatiques peut présenter de nombreux avantages par rapport aux insecticides de synthèses. Dans cette optique, notre étude a été achevée pour analyser l'efficacité répulsive et insecticide de deux huiles essentielles à savoir, de *T. pallescens* et *C. citratus* comme une des substances biologiques alternative aux pesticides chimique contre un ravageur potentiel des grains de céréales stockés *S. granarius*.

Les résultats obtenus montrent en premier ordre que les deux huiles essentielles ont exprimées des effets répulsifs et insecticides très remarquable sur la population de *S. granarius*, dont l'intensité varie selon le type de l'huile essentielle, la dose appliquée et le mode de toxicité appliqué.

Les résultats des tests répulsifs ont exprimé un effet très répulsif très remarquables des deux huiles essentielles, mais avec une intensité supérieurs pour celle de *T. pallescens*. Les doses 125, 100 et 75 μL expriment un effet hautement répulsif.

En effet, les huiles essentielles testées affectent significativement la vitalité des adultes de *S. granarius*. Les résultats obtenus par contact direct après 24h dénuident également 100% de mortalité corrigée avec les concentrations de 5, 10 et 20 μL avec l'huile essentielle de *T. pallescens*. Cependant, la mortalité corrigée provoquée par la formulation de *C. citratus* vis-à-vis *S. granarius* avec les mêmes concentrations est de l'ordre de 83.33 jusqu'à 100%. Par ailleurs, les tests par inhalation sur les adultes de *S. granarius* a atteint un taux de 100% de mortalité corrigée après 24h de traitement avec les concentrations de 125, 100 et 75 $\mu\text{L/L}$ air de la formulation de *T. pallescens*, respectivement. Toutefois, le taux de mortalité devient de plus en plus inférieur avec l'huile essentielle de *C. citratus*, dont les taux de mortalités corrigées sont de l'ordre de 2.89 et 47.89%, respectivement. Cependant, les valeurs les plus faibles de la DL_{50} ont été notées pour les traitements par l'huile essentielles de *T. pallescens* soit par contact ou par inhalation.

Dans les tests *in vivo*, le taux de survie a été déterminé pendant 20 jours après l'exposition des individus de *S. granarius* aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*. Les résultats obtenus montrent que la probabilité de survie de *S. granarius* a été diminuée de 99,9 % j avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de 23 % avec celle *C. citratus*.

La population de *S. granarius* traitée avec les deux huiles essentielles ont exprimé une diminution significative des teneurs protéiques, glucidiques et lipidiques. Les données montrent une diminution des teneurs protéiques de l'ordre 62.74 et 67.41% de chez les individus traités par la formulation de *T. pallescens*. En parallèle, une diminution variable entre 38.55 et 68.52%

Conclusion

chez la population de *S. granarius* traitée avec l'huile essentielle de *C. citratus*. Bien que, le taux des lipides est significativement diminué avec des fréquences variables entre 15.51 et 83.47% pour les individus de *S. granarius* traitées avec les huiles essentielles de *T. pallescens*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abbot, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267
- Abdelgaleil SAM, Abbassy MA, Belal ASH, Abdel Rasoul MAA. 2008. Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L. *Bioresour Technol.* 99(13):5947–5950.
- Abo-arab RB, Awadalla SS, abd El-Salam AH, El-Maadawy EA. 2014. Toxicity and repellent activity of spinosad and orange oil against *Rhizopertha dominica* F. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Plant Prot. Path Mansoura Univ* 5(1):23-32
- Abouelatta AM, Abou-Elghar GE, Elzun HM, Rizk AM. 2016. Insecticidal activity of crude essential oils of four aromatic plants against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Minufiya J Agric Res* 41(2):203-216
- Arthur FH. 1996. Grain protectants: Current status and prospects for the future. *J Stored Prod Res.* 32(4):293–302.
- Arthur FH. 1996. Grain protectants: Current status and prospects for the future. *J StoredProdRes.* 32(4):293–302.
- Aulicky R, Stejskal V. 2015. Efficacy and limitations of phosphine “spot-fumigation” against five coleoptera species of stored product pests in wheat in a grain store - Short note. *Plant Prot Sci.* 51(1):33–38.
- Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Obame LC, Ilboudo AJ, Franz C, Novak J, Nebié RC, Dicko MH. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18 (12): 1070–1074.
- Bell CH. 2011. Insect and mite penetration and contamination of packaged foods. [Place unknown]: Woodhead Publishing Limited. <http://dx.doi.org/10.1533/9780857092540.1.106>
- Benchabane O, Hazzit M, Mouhouche F, Baaliouamer A. 2015. Influence of Extraction Duration on the Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil of *Thymus pallescens* de Noé. *Arab J Sci Eng.* 40(7):1855–1865.
- Benelli G, Flamini G, Canale A, Molfetta I, Cioni PL, Conti B. 2012. Repellence of *Hyptissuaveolens* whole essential oil and major constituents against adults of the granary weevil *Sitophilus granarius*. *Bull Insectology.* 65(2):177–183.
- Bouzar Essaidi K, Allal-Benfekih L, Djazouli ZE. 2014. Comparative effects of biological treatments alone or in combination on the energy reserve contents of caterpillars of the pine processionary *Thaumetopeapytiocampaschiff* (Lepidoptera, Notodontidae). *Revue Agrobiologia*, 6: 47-52.

Références bibliographiques

Bouzar Essaïdi, K., Allal-Benfekih, L. and Djazouli, Z.E. 2014. Comparative effects of bio-logical treatments alone or in combination on the energy reserve contents of caterpillars of the pine processionary *Thaumetopea pytiocampaschiff* (Lepidoptera, Notodonti-dae). *Revue Agrobiologia*, 6: 47-52.

Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: (1-2) 248-254.

Camaroti JRSL, de Almeida WA, do Rego Belmonte B, de Oliveira APS, de Albuquerque Lima T, Ferreira MRA, Paiva PMG, Soares LAL, Pontual EV, Napoleão TH. 2018. *Sitophilus zeamais* adults have survival and nutrition affected by *Schinusterebinthifolius* leaf extract and its lectin (SteLL). *Ind Crops Prod* [Internet]. 116(February):81-89. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.065>

Campolo O, Giunti G, Russo A, Palmeri V, Zappalà L. 2018. Essential Oils in Stored Product Insect Pest Control. *J Food Qual*. 2018(October).

Campolo. O, Giunti.G, Russo .A, Palmeri.V, Zappalà. L. 2018. Essential Oils in Stored Product Insect Pest Control. *J Food Qual*. 2018(October).

Clevenger .J.F,1928.” apparatus for the Determination of Volatile Oil,”*Jornal of the American Pharmaceutical Association*, Vol 346-349

Clevenger J.F., 1928.Apparatus for the determination of volatile oil. *American Pharmaceutical association*. 17,345-349

Denholm I, Devine G. 2013. Insecticide Resistance. *EncyclBiodivers Second Ed*. 4:298-307.

Denholm. I, Devine .G. 2013. Insecticide Resistance. *EncyclBiodivers Second Ed*. 4:298-307.

Ditzen. M, Pellegrino. M, Vosshall LB. 2008. Insect odorant receptors are molecular targets of the insect repellent DEET. *Science* (80-). 319 (5871):1838-1841.

Djermoon A., 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques, *Revue Nature et Technologie*, (1), 45-53

Essoung. FRE, Tadjong.AT, Chhabra. SC, Mohamed .SA, Hassanali.A. 2020. Repellence and fumigant toxicity of essential oils of *Ocimumgratissimum* and *Ocimumkilimand scharicum* on *Tutaabsoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environ SciPollutRes*. 27(30):37963-37976.

FAOSTAT,. (2017). Base de données de l'organisation mondiale de l'agriculture et de l'alimentation [WWW.raostatoru](http://www.raostatoru) chickpea-statical

Références bibliographiques

- Finney D.J., 1971. *Statistical Methods in Biological Assay*. 2nd edition. London: Griffin. 333 P.
- In: Ndomo A.F., Tapondjou A.L., Tendonkeng F., Tchouanguép F.M. 2009. Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera ; Bruchidae). *Tropiculture* ,27(3), 137-143
- Fornal. J, Jeliński.T, Sadowska. J, Grundas.S, Nawrot.J, Niewiada. A, Warchalewski.JR, Błaszczak.W. 2007. Detection of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) eggs and internal stages in wheat grain using soft X-ray and image analysis. *J Stored Prod Res.* 43(2):142–148.
- Germinara.GS, Di Stefano .MG, De .Acutis. L, Pati.S, Delfine.S, De Cristofaro.A, Rotundo. G. 2017. Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. *Bull Insectology.* 70(1):129–138.
- Gong .X, Ren. Y. 2020. Larvicidal and ovicidal activity of carvacrol, p-cymene, and γ -terpinene from *Origanum vulgare* essential oil against the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Environ Sci Pollut Res.* 27(15):18708–18716.
- Guettal.S, Tine .S, Hamaidia. K, Tine-Djebbar.F, Soltani.N. 2020. Effect of *Citrus limonum* essential oil against granary weevil, *Sitophilus granarius* and its chemical composition, biological activities and energy reserves. *Int J Trop Insect Sci.*
- Hagstrum D.W., Phillips T.W., Cuperus G. 2012. *Stored Protection*, K-State Research a extension.kansas, 358p
- Hangstrum D.W., Phillips T.W., Cuperus G., *Stored Product Protection*, K-state Research and Extension.Kansas,358p
- Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19, 603–608.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45–66. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151146>
- Isman. MB, Miresmailli. S, MacHial. C. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochem Rev.* 10(2):197–204.
- Isman. MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu Rev Entomol.* 51:45–66.
- Keskin. S, Ozkaya.H. 2015. Effect of storage and insect infestation on the technological properties of wheat. *CYTA - J Food.* 13(1):134–139.
- Kim .S Il, Yoon. JS, Jung .JW, Hong .KB, Ahn.YJ, Kwon .HW. 2010. Toxicity and repellency of *Origanum* essential oil and its components against *Tribolium castaneum*

Références bibliographiques

- (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *J Asia Pac Entomol* [Internet]. 13(4):369–373. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aspen.2010.06.011>
- Kim, S. Il., Yoon, J.S., Jung, J.W., Hong, K.B., Ahn, Y.J. and Kwon, H.W. 2010. Toxicity and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13 (4): 369–373.
- Kljajić. P, Perić.I. 2006. Susceptibility to contact insecticides of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) originating from different locations in the former Yugoslavia. *J Stored Prod Res.* 42(2):149–161.
- Kordali. S, Yildirim.E, Yazici.G, Emsen.B, Kabaagac. G, Ercisli. S. 2012. Fumigant toxicity of essential oils of nine plant species from asteraceae and clusiaceae against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Egypt J Biol Pest Control.* 22(1):11–14.
- Kordali.S, Cakir.A, Ozer. H, Cakmakci. R, Kesdek. M, Mete .E. 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresour Technol.* 99(18):8788–8795.
- Lee .Y, Kim .SH, Montell. C. 2010. Avoiding DEET through insect gustatory receptors. *Neuron* [Internet]. 67(4):555–561. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.07.006>
- Lengai. GMW, Muthomi.JW, Mbega. ER. 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Sci African.* 7.
- Magan.N, Hope .R, Cairns. V, Aldred.D. 2003. Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *Eur J Plant Pathol.* 109(7):723–730.
- Marsin. AM, Muhamad.II, Anis.SNS, Lazim. NAM, Ching.LW, Dolhaji.NH. 2020. Essential oils as insect repellent agents in food packaging: a review. *Eur Food Res Technol* [Internet]. 246(8):1519–1532. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03511-1>
- Martínez.LC, Plata-Rueda. A, Colares.HC, Campos .JM, Dos .Santos .MH, Fernandes .FL, Serrão.JE, Zanuncio.JC. 2018. Toxic effects of two essential oils and their constituents on the mealworm beetle, *Tenebrionid*. *Bull Entomol Res.* 108(6):716–725.
- McDonald LL, Guy RH, Speirs RD. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. *Marketing Research Raport of agriculture*, p8
- Morgan ED. 2004. *Biosynthesis in Insects*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 226pp.

Références bibliographiques

Moutassem D., Bellik Y., Sennef M.E. 2021. Toxicity and repellent activities of *Thymus pallescens* Noë. and *Cymbopogon citratus* Stapf. essential oils against *Sitophilus granarius* L.. Plant Protect. Sci., *In press*.

Moutassem, D., Belabid L., Bellik, Y., Ziouche, S. and Baali, F. 2019. Efficacy of essential oils of various aromatic plants in the biocontrol of Fusarium wilt and inducing systemic resistance in chickpea seedlings. Plant Protection Science, 55 (3): 202–217. DOI: <https://doi.org/10.17221/134/2018-PPS>.

Moutassem. D, Belabid. L, Bellik.Y, Ziouche. S, Baali. F. 2019. Efficacy of essential oils of various aromatic plants in the biocontrol of Fusarium wilt and inducing systemic resistance in chickpea seedlings. Plant Prot Sci. 55(3):202–217.

Nawrot. J, Gawlak. M, Szafranek. J, Szafranek.B, Synak.E, Warchalewski.JR, Piasecka-Kwiatkowska. D, Błaszczak W, Jeliński.T, Fornal. J. 2010. The effect of wheat grain composition, cuticular lipids and kernel surface microstructure on feeding, egg-laying, and the development of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.). J Stored Prod Res. 46(2):133–141.

Ndomo AF, Ngamo LT. 2008. Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (W.) J.D.Hooks ex. Benth. (Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus* (say) (Coleoptera: Bruchidae). J Pest Sci 81(4):227-231

Obeng O.D., Reichmuth C.H Bekel J., Hanssali A., 1997. Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobeingira) against stored product beetles. J.Appl. Entomol., 121,237,243

Obeng-Ofori., D., Reichmuth C.H., Bekele J., Hanssanali A., 1997. Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil *Ocimum kenyense* (Ayobeingira) against stored product beetles, J. Appl. Entomol., 121,237-243

Oliveira .AP, Santos. AA, Santana .AS, Lima .APS, Melo. CR, Santana. EDR, Sampaio.TS, Blank .AF, Araújo. APA, Cristaldo. PF, Bacci.L. 2018. Essential oil of *Lippiasidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Crop Prot. 112(March):33–38.

Papachristos.DP, Stamopoulos.DC. 2001. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelidesobtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). J Stored Prod Res. 38(2):117–128.

Plaistow, S.J., Bollache, L. and Cézilly, F. 2003. Energetically costly precopulatory mate guarding in the amphipod *Gammaruspulex*: Causes and consequences. Animal Behaviour, 65 (4): 683–691. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbe.2003.2116>.

Références bibliographiques

Plastow. SJ, Bollache. L, Cézilly. F. 2003. Energetically costly precopulatory mate guarding in the amphipod *Gammarus pulex*: Causes and consequences. *Animal Behaviour*, 65 (4): 683–691.

Plata-Rueda .A, Campos .JM, da .Silva Rolim.G, Martínez.LC, Dos Santos.MH, Fernandes. FL, Serrão. JE, Zanuncio. JC. 2018. Terpenoid constituents of cinnamon and clove essential oils cause toxic effects and behavior repellency response on granary weevil, *Sitophilus granarius*. *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 156(January):263–270. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.033>

Plata-Rueda .A, Martínez LC, Rolim G da S, Coelho RP, Santos MH, Tavares W de S, Zanuncio JC, Serrão JE. 2020. Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulomoides dermestoides*. *CropProt*. 137.

Prates HT, Santos JP, Waquil JM, Fabris JD, Oliveira AB, Foster JE. 1998. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Stored Prod Res*; 34(4): 243-9.

Ranjini KD, Ranjini KR, Beegum TPN, Nambiar JG. 2016. Botanical extracts influence the protein and free amino acid concentration of fat body in the mango leaf webber *Orthagaevinacea Hampson* (Lepidoptera : Pyralidae). 4(1):464–468.

Riley I.T., Nicol J.M., Dababat A.A., 2009. Cereal cyst nematodes: status research and outlook, turkey, CIMMYT, 242p

Rosentrater KA, Evers AD. 2018. Introduction to cereals and pseudocereals and their production. [place unknown].

Sauer et al. 2004. :1–16.

Senthil-Nathan S. 2013. Physiological and biochemical effect of neem and other Meliaceae plants secondary metabolites against Lepidopteran insects. *Front Physiol*. 4 DEC(December):1–17.

Sonmez E, Gulel A. 2008. Effects of different temperatures on the total carbohydrate, lipid and protein amounts of the bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan journal of biological sciences*, 11 (14): 1803–1808.

Sonmez, E. and Gulel, A. 2008. Effects of different temperatures on the total carbohydrate, lipid and protein amounts of the bean beetle, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan journal of biological sciences*, 11 (14): 1803–1808.

Szczepanik, M.; Zawitowski, B.; Szumny, A. 2012. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser

Références bibliographiques

mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *Allelopathy J.* 30, 129–142

Tapondjou AL, Adler C, Fontem DA, Bouda H, Reichmuth C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J Stored Prod Res.* 41(1):91–102.

Tapondjou AL, Adler C, Fontem DA, Bouda H, Reichmuth C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J StoredProdRes.* 41(1):91–102.

Tapondjou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda H. and Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41 (1): 91–102. . DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2004.01.004>

Tarigan SI, Dadang, Sakti Harahap I. 2016. Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *J Biopestic.* 9(2):135–147.

Tarigan SI, Dadang, SaktiHarahap I. 2016. Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchusmaculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *J Biopestic.* 9(2):135–147.

Tarigan, S.I., Dadang, S. and Harahap, I. 2016. Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchusmaculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides*, 9 (2): 135–147.

Teke MA, Mutlu Ç. 2020. Insecticidal and behavioral effects of some plant essential oils against *Sitophilus granarius* L. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Plant Dis Prot.*(0123456789).

Teke MA, Mutlu Ç. 2020. Insecticidal and behavioral effects of some plant essential oils against *Sitophilus granarius* L. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Plant Dis Prot.*(0123456789).

Trivedi A, Nayak N, Kumar J. 2018. Recent advances and review on use of botanicals from medicinal and aromatic plants in stored grain pest management. *J EntomolZool Stud.* 6(3):295–300.

Tyler PS, Binns TJ. 1982. The influence of temperature on the susceptibility to eight organophosphorus insecticides of susceptible and resistant strains of *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* and *Sitophilus granarius*. *J Stored Prod Res.* 18(1):13–19.

Van Handel E. 1985a. Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1 (3): 299–301.

Références bibliographiques

Van Handel E. 1985b. Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1 (3): 302–304.

Vélez M, Barbosa WF, Quintero J, Chediak M, Guedes RNC. 2017. Deltamethrin- and spinosad-mediated survival, activity and avoidance of the grain weevils *Sitophilus granarius* and *S. zeamais*. *J Stored Prod Res.* 74:56–65.

Vijayaraghavan C, Sivakumar C, Kavitha Z, Sivasubramanian P. 2010. Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crocidolomia binotalis* Zeller. *J Biopestic.* 3(1 SPEC.ISSUE):275–277.

Waongo A., Yamkoulga M., Dabir-Binso C.L., Ba M.N., Sanon A., 2013 Conservation post-récolte des céréales en zone sud-saoudienne de Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3), 1157-1167.

Yang Y, Isman MB, Tak JH. 2020. Insecticidal activity of 28 essential oils and a commercial product containing cinnamomum cassia bark essential oil against *sitophilus zeamais* Motschulsky. *Insects.* 11(8):1–15.

Yildirim E, Emsen B, Kordali S. 2013. Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *J Appl Bot Food Qual.* 86(1):198–204.

Zettler JL, Arthur FH. 2000. Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Prot.* 19(8–10):577–582.

Ziaee M, Moharramipour S, Francikowski J. 2014. The synergistic effects of *Carumcopticum* essential oil on diatomaceous earth against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. *J AsiaPacEntomol.* 17(4):817–822.