



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 بوعريش

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



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 larvicide et adulticide des huiles essentielles de *Thymus pallescens* (de Noé.) et *Cymbopogon citratus* (Stapf.) contre *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797).

Présenté par : BENTOUATI *Khaoula* et DJAIZ *Assia*

Devant le jury :

Président :	M ^r	A.B. BOULAOUED	MAA (Université de BBA)
Encadrant :	M ^r	D. MOUTASSEM	MCB (Université de BBA)
Examineur :	M ^{me}	S. ZIOUCHE	MCB (Université de BBA)

Année universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENT

Nous tenons à remercier et rendre grâce à Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté de mener à bon terme ce modeste travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Nous voudrions remercier Notre encadreur Mr MOUTASSEM *Dahou*, pour l'aide qu'il a fournie et les connaissances qu'il a su nous transmettre. Nous le remercions également pour sa disponibilité et la qualité de ses conseils."

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à Mme ZIOUCHE *Sihem* d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Nos vifs remerciements vont également à Mr BOULAOUAD *Aymen* pour l'honneur qu'il nous a accordé, pour accepter d'examiner ce travail.

Nous tenons à saisir cette occasion pour adresser nos profonds remerciements et nos profondes reconnaissances aux responsables et au personnel de notre faculté.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères au corps professoral et administratif de l'Université, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous n'oublions pas de remercier les membres de l'équipe laborantine, Mr Makhokh Nacer Eddine et Mr REBAI Khalil pour leur aide, ainsi qu'à tous nos collègues de la promotion et nous profitons de cette occasion pour remercier tous proches et tous amis, qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire. Merci à toutes et à tous.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

La source de tendresse et d'amour ma très chère maman la plus merveilleuse et la plus courageuse des mères du monde que dieu la protège à chaque moment.

A mon chère père

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai pour toi.
Rien au monde ne vaut les efforts tu as fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

A ma très chère sœur : Salsabile.

A mes très chère frère : Mohamed, et mon petit wassim.

Ma chère binôme Assia.

Meilleures amies : Zohra, Afaf, Aicha, Nesrin, Rawya, Nahed.

A toute la promotion de protection des végétaux.

BENTOUATI Khaoula

DEDICACES

A mes chers parents, source de vie, d'espoirs et d'affection

A mon mari, source d'amour et motivation et d'encouragement

A mes enfants source de joie et de bonheur

Ma sœur Khadîdja source de soutien inconditionnelle

A tous mes cher amis

DJAIZ Assia

Evaluation de l'effet larvicide et adulticide des huiles essentielles de *Thymus pallescens* (de Noé.) et *Cymbopogon citratus* (Stapf.) contre *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797).

Résumé

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de la partie aérienne de *Thymus pallescens* et *Cymbopogon citratus* ont été analysées pour leur activité adulticide et larvicide contre *T. castaneum*. Les deux huiles essentielles ont montré une activité adulticide et larvicide prononcée contre *T. castaneum* d'une manière dose-dépendante. L'huile essentielle de *T. pallescens* a montré un effet plus répulsif avec des valeurs qui varient entre 83,4 % et 100 % par rapport à l'huile essentielle de *C. citratus*. De plus, l'huile essentielle de *T. pallescens* était l'agent le plus efficace et le stade adulte était plus sensible aux deux huiles essentielles. En ce qui concerne les tests de contact et de fumigation, l'huile essentielle de *T. pallescens* a provoqué des taux de mortalité corrigés de 33,33 % à 66,67 % et de 25 à 100 % chez l'adulte de *T. castaneum*, avec des valeurs de DL₅₀ de 17,7 et 15 µL/mL, respectivement. En outre, l'huile essentielle de *T. pallescens* a également montré des valeurs de DL₅₀ de 18,1 et 15,5 µL/mL contre les larves de *T. castaneum* et des taux de mortalité corrigés de 42,5%-90% et 20%-100%, respectivement. Dans les tests *in vivo*, 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 *T. pallescens* et à 36 % chez les insectes traités à l'huile essentielle de *C. citratus*. L'analyse des réserves énergétiques indique une diminution significative des teneurs en protéines, glucides et lipides chez les insectes traités. Cette étude a mis en évidence la toxicité bio-insecticide de l'huile essentielle de *T. pallescens* et de *C. citratus* contre le ravageur *T. castaneum*, révélant des gradients d'activité insecticide positifs et négatifs selon le mode d'exposition.

Mots clés. Mortalité corrigée, inhalation, contact, probabilité de survie, *in vivo*.

Evaluation of the larvicidal and adulticidal effect of *Thymus pallescens* (from Noah.) and *Cymbopogon citratus* (Stapf.) essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797).

Abstract

Essential oils obtained by hydrodistillation from the aerial part of *Thymus pallescens* and *Cymbopogon citratus* were tested for their adulticidal and larvicidal activity against *T. castaneum*. Tested EOs showed pronounced adulticidal and larvicidal activity against insect pests in a dose-dependent manner. EO of *T. pallescens* exhibited a more repellent effect with values ranging from 83.4% to 100% compared to EOs of *C. citratus* (17.4% to 97.3%). In addition, *T. pallescens* EO was the most effective agent, and adult stage was more susceptible to both essential oils. Regarding the contact and fumigation tests, *T. pallescens* EO caused corrected mortality rates of 33.33%–66.67% and 25%–100% in adult of *T. castaneum*, respectively, with half-maximal lethal concentration (LC₅₀) values of 17.7 and 15 µL/mL. *T. pallescens* essential oil showed also LC₅₀ values of 18.1 and 15.5 µL/mL against larvae of *T. castaneum* and corrected mortality rates of 42.5%–90% and 20%–100%, respectively. In *in vivo* test, the survival probability was 99.9% in control insects, decreasing to 2.48% in insects exposed to the essential oil of *T. pallescens* and to 36% in insects treated with *C. citratus* essential oil. Analysis of energy reserves indicate a significant decrease in protein and carbohydrate and lipid contents in treated insects. This study highlighted the bio-insecticidal toxicity of *T. pallescens* and *C. citratus* essential oil against *T. castaneum* pest, revealing both significant positive and negative insecticidal activity gradients depending on the manner of exposure.

Corrected mortality, contact test, fumigation, survival probability, *in vivo*.

تقييم تأثير الزيوت الأساسية لنبات الزعتر *Thymus pallescens* ونبات الليموني *Cymbopogon citratus* ضد يرقات و

الحشرات البالغة لخنفساء الدقيق الحمراء *Tribolium castaneum*.

الملخص

الزيوت الأساسية المتحصل عليها عن طريق التقطير المائي للجزء الهوائي لنبات الزعتر *Thymus pallescens* والليموني *Cymbopogon citratus* والتي تم تجريب نشاطهم كمبيد قاتل البالغين ويرقات خنفساء الدقيق الحمراء *T. castaneum*. الزيتين الأساسيين المتحصل عليهما أظهرتا نشاطا مبيدا ضد الحشرات البالغة ويرقات خنفساء الدقيق الحمراء بطريقة تعتمد على الجرعة. الزيت العطري لنبات الزعتر أظهر تأثير طردي أكثر في القيم ما بين 83,4 و100 بالمئة مقارنة مع الزيت الأساسي لنبات الليموني. بالإضافة الى الزيت الأساسي للزعتر هو العامل الأكثر تأثيرا للحشرات البالغة هي الأكثر حساسية للزيتين الأساسيين. فيما يخص اختبار الاتصال والتبخير للزيت الأساسي للزعتر فقد تسبب في نسبة وفيات تتراوح ما بين 33.3 الى 66.67 بالمئة عند اليرقات وما بين 25 الى 100 بالمئة عند الحشرات البالغة من خنفساء الدقيق الحمراء بقيم الجرعات المميته المتوسطة ما بين 15 الى 17.7 مكل/مل. بالإضافة الى ان الزيت الأساسي لعشب الليمون أظهر أيضا قيم مميته تتراوح ما بين 42.5 الى 90 بالمئة و20 الى 100 بالمئة على التوالي. في اختبار الجسم الحي احتمال البقاء على قيد الحياة يقدر ب 99.9 بالمئة عند الحشرة الشاهد وتنخفض الى 2.48 بالمئة عند تعريض الحشرات الى الزيت الأساسي للزعتر و36 بالمئة بالنسبة للزيت الأساسي لنبات الليموني. تحاليل المخزون الطاقوي تظهر انخفاض ملحوظ في البروتينات السكريات والدهن عند الحشرات المعالجة. هذه الدراسة أظهرت سمية مبيدات الحشرات الحيوية للزيوت الأساسية لنبات الزعتر والليموني ضد الآفة الحشرية خنفساء الدقيق الحمراء مبينة تدرجات في نشاط المبيد الحشري حسب طريقة التعرض.

الكلمات المفتاحية: وفيات المصححة، اختبار الاتصال، التبخير، احتمالية البقاء على قيد الحياة، تجارب الجسم الحي.

TABLE DES MATIERES

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

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel et méthodes	3
1.1. Matériel biologique	3
1.1.1. Matériel animal.....	3
2.1.1. Matériel végétal.....	3
1.2. Extraction des huiles essentielles.....	4
1.2. Tests biologiques.....	4
1.2.1. Test d'évaluation de l'effet répulsif des huiles essentielles.....	4
1.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact.....	5
1.2.3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par fumigation.....	5
1.2.4. Test in vivo et relation temps- probabilité de survie.....	6
1.3. Effet des huiles essentielles sur les réserves énergétiques.....	6
1.3.1. Dosage des protéines.....	6
1.3.2. Quantification des glucides.....	7
1.3.3. Quantification des lipides.....	9
1.4. Expression des résultats	10
1.4.1. Calcul de la mortalité.....	10
1.4.2. Correction de la mortalité.....	10
1.4.3. Détermination de la DL ₅₀	10
1.4. Analyse statistiques.....	10

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Résultats.....	12
1.1. Effet répulsif des huiles essentielles sur la population de <i>T. castaneum</i>	12
1.2. Effet toxique des huiles essentielles par contact direct.....	12
1.3. Effet toxique des huiles essentielles par inhalation.....	15
1.4. Détermination de la DL ₅₀	16
1.5. Test in vivo et relations Temps – probabilité de survie.....	16

1.6. Variation quantitative des réserves énergétiques chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> traités par les huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>	17
1.6.1. Effet sur le taux des protéines.....	17
1.6.2. Effet sur le taux des lipides.....	21
1.6.3. Effet sur le taux des glucides.....	21
2. Discussion.....	22
Conclusion	27
Référence Bibliographique.....	29

LISTES DES FIGURES

Figure 1. Photos de deux espèces végétales utilisées dans cette étude a) <i>T. pallescens</i> et b) <i>C. citratus</i> (Moutassem <i>et al.</i> , 2021).....	3
Figure 2. Schéma récapitulatif représente le dosage des protéines selon la technique de Bradford (1976).....	7
Figure 3. Schéma récapitulatif représente le dosage des glucides selon la technique de de Van Handel (1985a) et Bozdoğan <i>et al.</i> (2016).....	8
Figure 4. Schéma récapitulatif représente le dosage des lipides selon la technique de de Van Handel (1985a) et Bozdoğan <i>et al.</i> (2016).....	9
Figure 5. Effet comparé des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> et leurs doses sur <i>T. castaneum</i> par contact et par inhalation chez les adultes et les larves.....	13
Figure 6. Variation des taux de mortalité corrigée chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> exposés aux différentes doses des formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact.....	14
Figure 7. Résultats de la DL ₅₀ des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation sur les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i>	16
Figure 8. Courbes de la probabilité de survie des adultes de <i>T. castaneum</i> exposés à l'huile essentielle de <i>C. citratus</i> et <i>T. pallescens</i>	17

Figure 9. Variation des taux de des protéines chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> exposés aux huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation.....	18
Figure10. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des protéines, des lipides et des glucides chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> traités par les différentes concentrations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>.....	18
Figure 11. Variation des taux de des lipides chez les adultes et larves de <i>T. castaneum</i> exposés aux huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i> par contact et par inhalation.....	19
Figure 12. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des lipides chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> traités par les huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>.....	19
Figure 13. Variation des taux des glucides chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> traités avec les huiles essentielles Les résultats représentent la moyenne± erreur standard.....	20
Figure14. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des glucides chez les adultes et les larves de <i>T. castaneum</i> traités par les huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>.....	20

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Pourcentage de répulsion (PR) selon le classement de MC Donald <i>et al.</i>, (1970).....	5
Tableau 2 : Effets répulsifs sur les adultes de <i>T. castaneum</i> exposés aux formulations des huiles essentielles de <i>T. pallescens</i> et <i>C. citratus</i>.....	12

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA: Analysis of variance
BSA: Sérum albumine bovine
C°: Celsius
cm: Centimètre
D.O: Densité optique
EROD: Ethoxyrésorufine O-déséthylase
Fem: Femelle
FNUF: Forum des Nations Unis sur les Forêts
g: Gramme
g/l: Gramme par litre
G250 : Bleu de Coomassie
G.L.M : Modèle général linéaire
G.L.M : Modèle général linéaire
GST: Activité de la glutathion-S-transférase
H: Heure
ha: Hectare
Has: Hasard
HCL : Acide chlorhydrique
Kg/dm³ : Kilogramme par décimètre cube
Km : Kilomètre
m: Mètre

mg/mL: Milligramme par millilitre
mg EQ/gMS : milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche
µg: Microgramme
µl: Microlitre
min: Minute
ml: Millilitre
mm: Millimètre
mm/an : Millimètre par année
Na₂CO₃: Carbonate de sodium
nm: Nanomètre

INTRODUCTION

Introduction

Les céréales représentent une importante ressource assurant la consommation humaine et l'alimentation du bétail. Elles tiennent la première place quant à l'occupation des surfaces agricoles, dont 70 % de ces terres agricoles mondiales sont emblavées en céréales (FOASTAT, 2021).

La production de cette culture est saisonnière, n'est récoltée qu'une seule fois par an. Pour garantir la sécurité alimentaire nationale en matière de céréales, les récoltes doivent être stockées dans des entrepôts durant des périodes variables, allant de quelques jours à plus d'un an (Proctor 1994). De ce fait, le stockage est le seul moyen pour assurer le lien entre la récolte usuel une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Waongo *et al.*, 2013). Malheureusement, au cours du stockage, les céréales subissent des altérations diverses, d'ordre abiotique et biotique (Caid *et al.*, 2008). Les insectes sont les principaux agents biologiques responsables des pertes de ces denrées, dont les dégâts peuvent atteindre jusqu'à 10% à l'échelle mondiale (De Carvalho *et al.*, 2013), et plus de 50% dans les pays en voie de développement (Brader *et al.*, 2002).

L'espèce *T. castaneum* est parmi les ravageurs secondaires des produits stockés, cette espèce est incapable d'infester et endommager les grains sains mais nécessite un substrat qui a été auparavant affecté par des ravageurs primaires (Upadh-yay *et al.*, 2018). Elle augmente la température et l'humidité des grains stockés pour générer un environnement favorable pour la propagation fongique, ce qui signifie une augmentation de la dégradation et de la détérioration des grains (Yun *et al.*, 2018). De plus, la dégradation du grain stocké par les champignons entraîne une diminution de la quantité de germination, des dommages au poids, des odeurs et une décoloration, ce qui réduit la qualité globale du grain (Yun *et al.*, 2018). Ce ravageur est à l'origine de pertes supplémentaires dues à sa relation avec les champignons toxicogènes lors du stockage (Philip et Throne 2010), principalement *Aspergillus* spp, et *Penicillium* spp., qui libèrent des mycotoxines telles que les aflatoxines (Upadhyay *et al.*, 2018 ; Yun *et al.*, 2018). Pour contrôler ces insectes ravageurs, l'application des insecticides chimiques synthétiques pour est une pratique typique. Cependant, on connaît maintenant les effets parfois très néfastes sur les insectes non cibles et les écosystèmes en général de ces pesticides (Colignon *et al.*, 2003).

Autrement, l'utilisation excessive de ces produits chimiques a conduit au développement de la résistances (Corrêa *et al.*, 2011 ; Abdelgaleil *et al.*, 2016). En effet, la résistance à plusieurs insecticides a été décrite pour de nombreux insectes de stockage (Ribeiro *et al.*, 2003 ; Sousa *et al.*, 2008 : Sartori 1993). Plusieurs recherches ont montré la résistance de *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais* et *Tribolium castaneum* contre le malathion, le pirimiphos-méthyl, le fénitro-thion et la phosphine (Ribeiro *et al.*, 2003 ; Sousa *et al.*, 2008 : Sartori 1993).

Introduction

En raison des possessions indésirables, les biopesticides sont une alternative respectable aux produits chimiques synthétiques (Geraldin *et al.*, 2020; Isman 2006). Jusqu'à présent, un certain nombre de dérivés végétaux ont prouvé leur activité insecticide (Lakshmi Soujanya *et al.*, 2016). Les huiles essentielles (HE) extraites de diverses plantes aromatiques peuvent fournir des alternatives appropriées pour gérer les insectes nuisibles des céréales stockées (Campolo *et al.*, 2018). Leur utilisation a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche au cours de la dernière période et a stimulé un intérêt scientifique intense reproduit dans le nombre d'études portant sur l'efficacité des HE dans la protection des céréales et des produits stockés (Campolo *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2020, Trivedi *et al.*, 2018).

L'objectif principal de ce travail consiste à évaluer *in vitro* l'efficacité insecticide par contact et par inhalation de deux huiles essentielles formulées *Thymus pallescens* Noé et *C. citratus* contre les larves et les adultes de *Tribolium castaneum*. Cette étude est organisée en deux chapitres : Le premier chapitre présente les matériels et méthodes utilisés. Le deuxième chapitre porte sur les résultats obtenus et discussion. Enfin, nous terminons la présente étude par une conclusion générale et les perspectives de recherche.

CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel animal

Cette étude est conduite sur les larves et les adultes de *T. castaneum*. Ces derniers ont été prélevés à partir des graines de blé déjà infestées. Les échantillons ont été portés 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'élevage de cette espèce ravageuse a été effectué dans des boîtes en plastique mesurant 20×30 ×15cm, portant 1Kg de blé dur mélangé avec 500 g de la farine. Ces boîtes ont été infestées par 100 individus (50 males et 50 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 pallescens*) et la citronnelle (*Cymbopogon citratus*). Ces deux espèces ont été collectées à partir de la région de Mascara et Alger pendant le stade floraison.

La partie aérienne des plantes 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.



Figure 1. Photos de deux espèces végétales utilisées dans cette étude a) *T.pallescens* et b) *C.citratus* (Moutassem *et al.*, 2021).

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.

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 et les larves de *T. castaneum* a été évalué selon la technique de McDonald *et al.* (1970) en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre.

Dans cette expérience, les disques de papier filtre de 9cm de diamètre utilisé à cet effet ont été divisés en deux parties égales. Cinq teneurs différentes en huile essentielle sont utilisées dans ce test : 10, 20, 30, 40 et 50 µL. À l'aide d'une micropipette, un volume de 0,5 ml de l'huile essentielle a été introduit sur la 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 l'évaporation de l'acétone, les deux moitiés de disque ont été ressoudées au moyen d'un scotch.

Les disques de papier filtre ont été placés dans une boîte de Pétri de 9cm de diamètre. Une population de dix larves et individus de *T. castaneum* a été installé au centre de papier filtre, plus particulièrement 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	$PR \leq 0,1\%$	Non répulsive
Class I	$0,1 < PR \leq 20\%$	Très faiblement répulsive
Class II	$20 < PR \leq 40\%$	Faiblement répulsive
Class III	$40 < PR \leq 60\%$	Modérément répulsive
Class IV	$60 < PR \leq 80\%$	Répulsive
Classe V	$80 < PR \leq 100\%$	Très répulsive

1.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact

Les essais de toxicité par contact ont été réalisés selon la méthode de Taponjoui *et al.* (2005). Pour l'évaluation de l'effet adulticides et larvicides des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* ont été formulées par l'acétone, en diluant 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 2 mL pour chaque concentration.

Les disques de papier filtres traitées ont été laissés à l'air libre pendant dix minutes, afin d'évaporer l'acétone. Un lot de dix adultes et dix larves de *T. castaneum* a été mis dans les boîtes 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. 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 par fumigation

L'effet adulticides et larvicides des huiles par fumigation a été évalué contre les adultes *T. castaneum* selon la méthode décrite par Abdelgaleil *et al.* (2016). Des flacons en verre de 1 L ont été utilisés comme des chambres de fumigation. Les huiles essentielles brutes ont été utilisées dans cette expérience suivant les concentrations 10, 20, 30, 40 et 50 $\mu\text{L/L}$ d'air. Des papiers filtres (Whatman n° 1) ont été découpés en morceaux de 9 cm de diamètre, chargés avec les différentes concentrations des huiles essentielles, puis fortement posés sur les dessous des couvercles des flacons. L'intérieur des flacons a été brossé avec de la vaseline afin éviter le contact direct entre les insectes et l'huile essentielle. Les couvercles contenant le

papier filtre traité ont été fortement vissés sur bouchons contenant un lot de Dix larves et adultes de *T. castaneum*. 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 seulement avec de l'acétone. Trois répétitions de chaque traitement ont été mises en place. Tous les insectes traités et non traités ont été maintenus à 25 ± 3 °C, $65 \pm 5\%$ HR et 12 :12 h lumière : obscurité. Le nombre d'insectes morts est enregistré après 24 h de traitement. Les insectes ont été considérés morts quand aucun mouvement n'a été enregistré. La concentration létale causant 50% de mortalité (CL50) exprimée en $\mu\text{L/L}$ d'air a été calculée à partir de la concentration logarithmique des lignes de régression de la mortalité (Finney, 1971)

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

Ce test a été réalisé pour étudier l'effet de toxicité de l'évaporation des huiles essentielles sur les adultes et les larves de *T. castaneum*. Nous avons utilisé deux boîtes en plastique, chaque boîte contient 1Kg d'un mélange de blé dur et de la farine (1v/1v). Les boîtes contenant le mélange ont été contaminées avec un lot de 100 larves et 100 individus de *T. castaneum*. 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 des huiles essentielles. Les témoins ont été disposés dans les mêmes conditions avec de l'acétone. Ces bouchons sont placés à l'étuve réglée à 30.5C° 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 les réserves énergétiques

Pour mesurer les protéines, les lipides et la teneur totale en glucides, des insectes adultes ont été traités avec les cinq 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. Quantification 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.

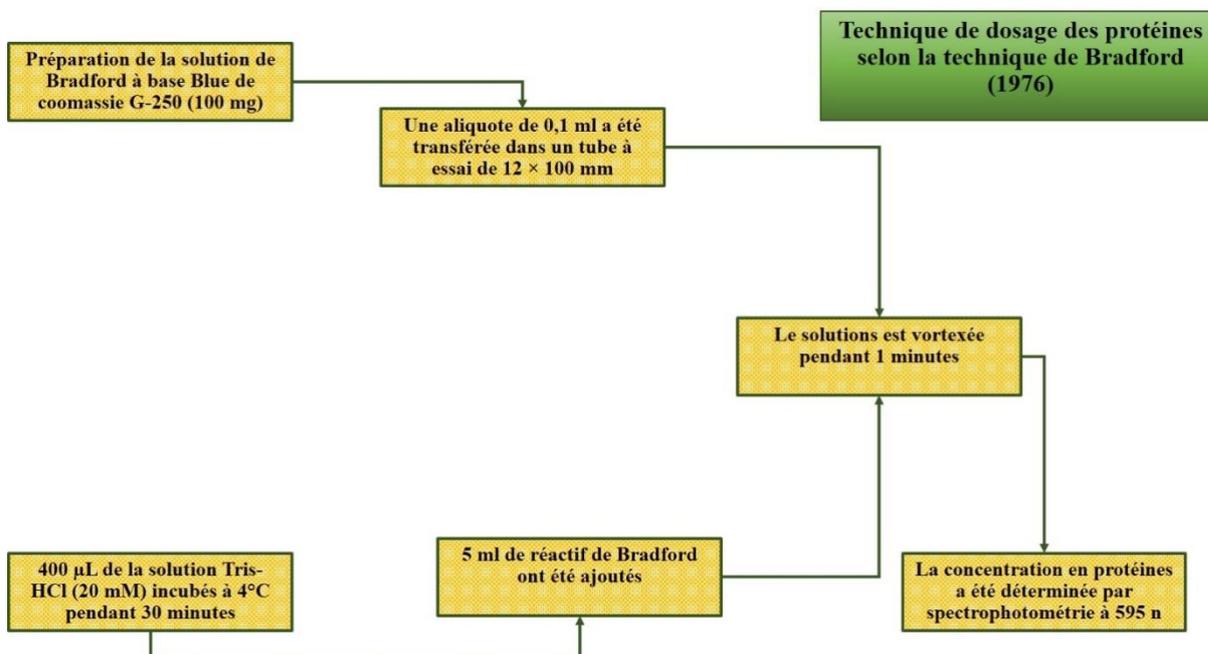


Figure 2. Schéma récapitulatif représente le dosage des protéines selon la technique de Bradford (1976).

Après avoir écrasé les insectes individuels 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 x 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. Quantification 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 utilisé. 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 10 ml de chloroforme et 20 ml de méthanol. Ce mélange a été disposé dans un flacon bien agité par la suite, hermétiquement scellé et stocké

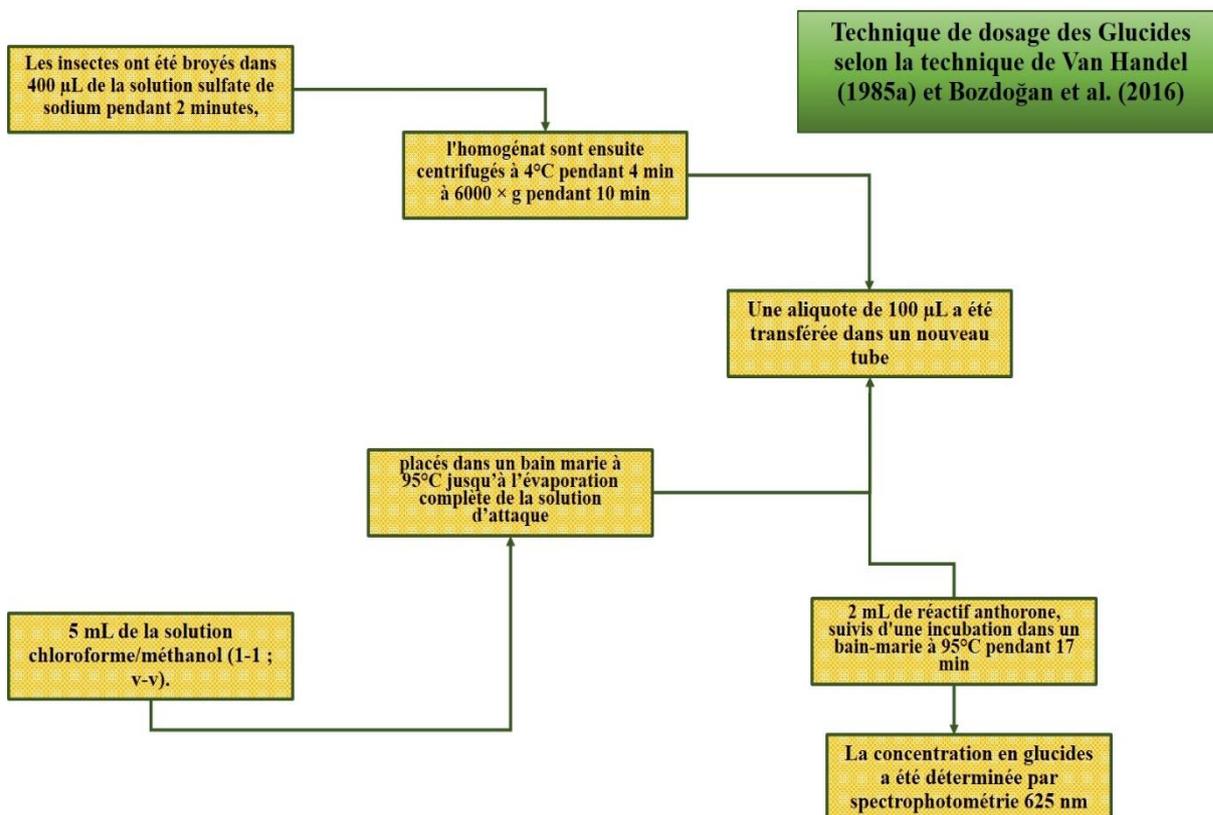


Figure 3. Schéma récapitulatif représente le dosage des glucides selon la technique de Van Handel (1985a) et Bozdoğan *et al.* (2016).

Les insectes ont été broyés dans 400 µL de la solution sulfate de sodium pendant 2 minutes, suivi par l'addition de 5 mL 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. Quantification des lipides

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

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 μ L de solution de chloroforme/méthanol (1:2, v:v). Le surnageant a été transféré dans un tube propre (16 \times 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 μ L d'acide sulfurique concentré (95 %) ont été ajoutés et le solvant a été laissé s'évaporer à 90 °C pendant environ 10 min.

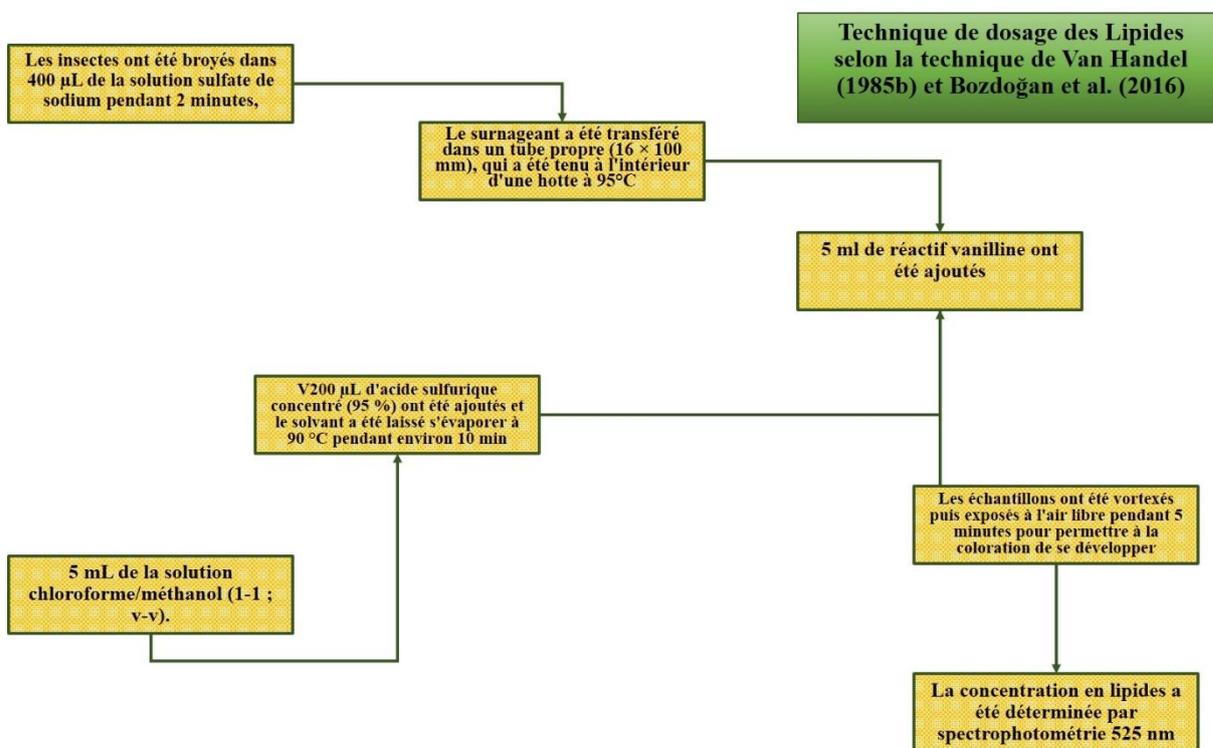


Figure 4. Schéma récapitulatif représente le dosage des lipides selon la technique de Van Handel (1985a) et Bozdoğan *et al.* (2016)

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 μ g d'huile végétale commerciale.

1.4. Expression des résultats

1.4.1. Calcul de la mortalité

L'efficacité des huiles essentielles a été évaluée par le taux de mortalité provoqué sur la population traitée. Les taux de mortalité des adultes témoins et traités sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité (TM)\%} = \frac{\text{nombre de mort } d}{\text{nombre total}} \times 100$$

1.4.2. Correction de la mortalité

Les taux de mortalités (M) 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 :

$$\text{MC\%} = ((M - M_t) * 100) / (100 - M_t)$$

Mc : la mortalité corrigée.

M : pourcentage de morts dans la population traitée.

Mt : pourcentage de morts dans la population témoin

1.4.3. 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. Analyse statistiques

Le modèle Général linéaire (GLM) a été utilisé pour analyser les valeurs de la mortalité corrigées (CM%) et la quantification des biomarqueurs énergétiques. Le MC% a été soumis à une analyse de probit 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 %.

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-Meier pour obtenir les courbes de survie et les estimations du temps de survie médian (LT₅₀). 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

1. Résultats

1.1. Effet répulsif des huiles essentielles sur la population de *T. castaneum*

L'analyse de la variance ANOVA a montré un effet très hautement significatif des huiles essentielles et ces doses et l'interaction entre les deux facteurs sur le taux répulsif des adultes et des larves de *T. castaneum* (Tableau 2). Les résultats obtenus montrent que les deux huiles essentielles ont un effet répulsif très remarquable qui varie avec la variation de l'huile essentielle ($P=0,000$), la dose ($P=0,000$) et le stade de l'insecte ravageur ($P=0,000$). Toutefois, l'huile essentielle de *T. palleescens* soit le plus répulsive comparée à celle de *C. citratus*, bien que, l'effet répulsif est plus intense sur le stade adulte comparé avec le stade larvaire (Figure 1 A). Le traitement de données a indiqué que la répulsion des huiles essentielles est dose dépendante elle augmente avec l'augmentation de la dose pour les deux huiles essentielles et les deux stades d'application. Néanmoins, l'huile essentielle de *T. palleescens* a produit un taux de répulsion variable entre 41.27 et 100 sur la population de stade adulte et entre 33.33 et 88.89% sur le stade larvaire.

Tableau 2. Effets répulsifs sur les adultes de *T. castaneum* exposés aux formulations des huiles essentielles de *T. palleescens* et *C. citratus*. Les résultats représentent la Moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

		<i>T. palleescens</i>		<i>C. citratus</i>	
	Dose (μ L)	Effet répulsif	Classe	Effet répulsif	Classe
Stade adulte	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
stade larve	125	88,89 \pm 6.66a	Classe V	75,00 \pm 4.66a	Classe V
	100	88,89 \pm 4.66a	Class IV	57,14 \pm 6.73a	Class IV
	75	57,14 \pm 4.63b	Classe V	57,14 \pm 7.95a	Classe V
	50	33,33 \pm 2.36c	Class III	33,33 \pm 4.760a	Class III
	25	00.00 \pm 00,00d	Class III	00,00 \pm 00,00a	Class III

1.2. Effet toxique des huiles essentielles *T. castaneum* par contact direct

L'analyse de la variance ANOVA effectuée par le modèle GLM révèle une différence très hautement significative de l'huile essentielle, la dose et le stade physiologique de l'insecte. L'efficacité des huiles essentielles est dose dépendante, elle augmente avec l'augmentation de la concentration (Figure 5). La dose de 20 μ L/mL est la plus efficace et la dose de 1 μ L/mL est

Chapitre II. Résultats et discussion

la faiblement efficace. A cet effet, l'huile essentielle de *T. pallescens* avec la dose 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ est les plus efficace, bien que le stade adulte et le plus sensibles aux effets des huiles essentielles (Figure).

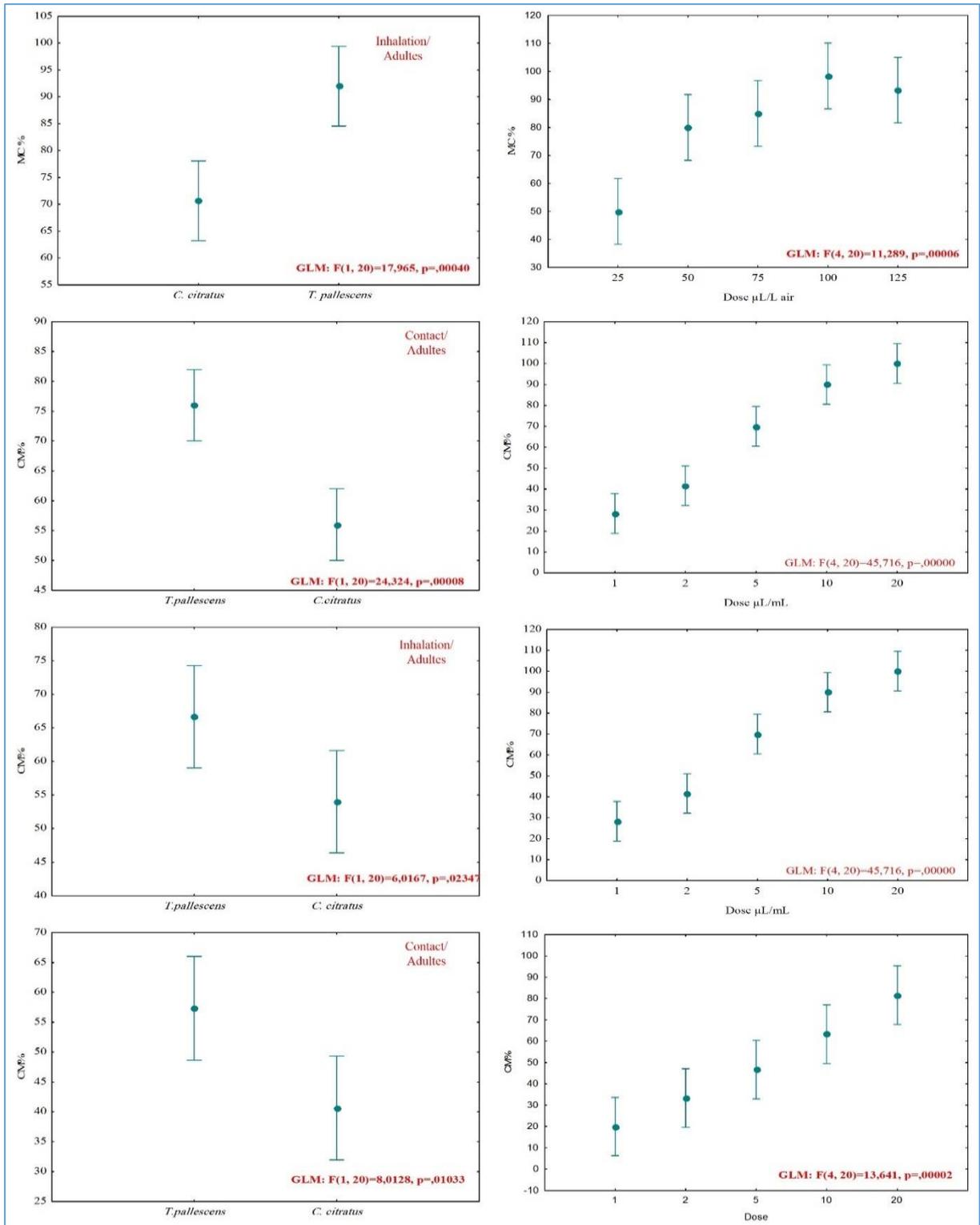


Figure 5. Effet comparé des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* et leurs doses sur *T. castaneum* par contact et par inhalation chez les adultes et les larves.

Chapitre II. Résultats et discussion

Les résultats affichés dans la figure exposent également un effet insecticide très remarquable de la formulation de *T. pallescens* contre les adultes de *T. castaneum* qui varie entre 43.33 et 100 % contre les adultes de *T. castaneum*. Cependant, l'effet insecticide le plus élevé a été noté chez les individus testés avec les concentrations 5, 10 et 20 μL avec des taux de MC% environ 80, 100 et 100%, respectivement. Par contre, le plus faible effet a été remarqué chez les individus traités avec la concentration 1 μL , dont la MC% enregistrée est de 43.33%. Par ailleurs, l'huile essentielle de *C. citratus* a montré des taux de MC% remarquable et qui varient entre 13.33 et 100%, alors que, les concentrations de 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ sont les plus efficaces avec des taux de CM% environ 80 et 100%.

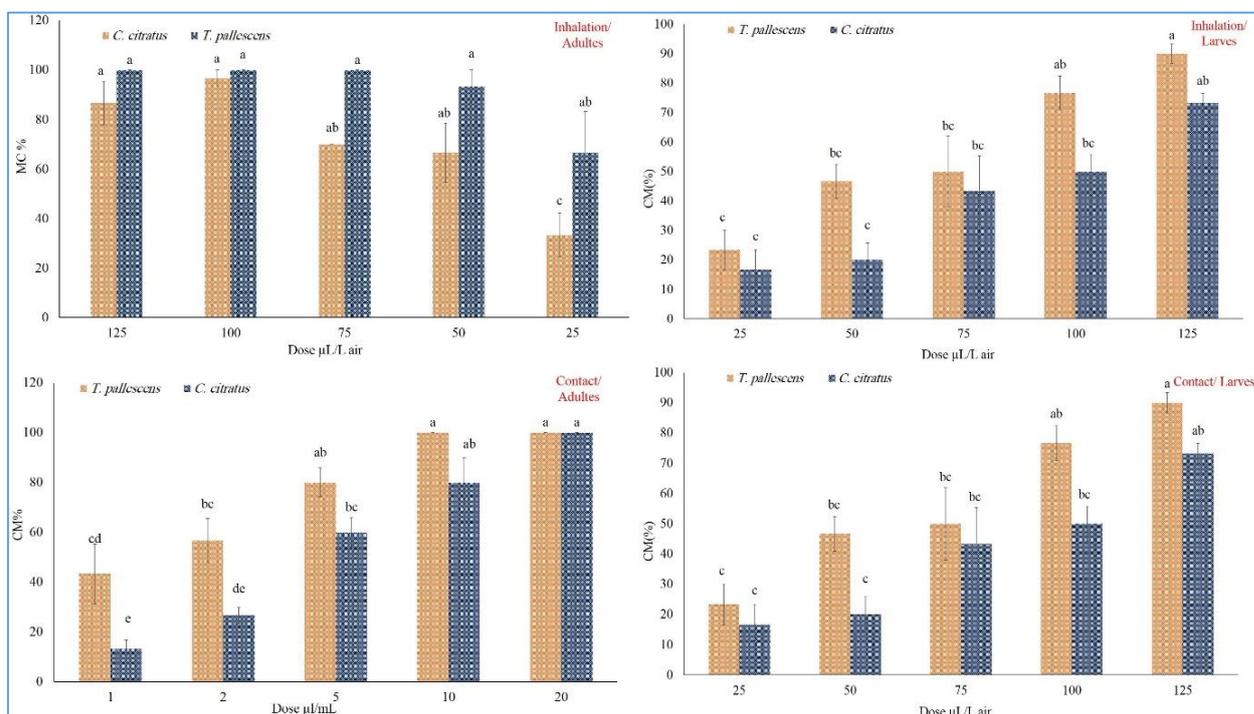


Figure 6. Variation des taux de mortalité corrigée chez les adultes et les larves de *T. castaneum* exposés aux différentes doses des formulations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact. Les résultats représentent la Moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent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

La formulation de l'huile essentielle de *T. pallescens* a été révélée fortement efficace pour contrôler les larves de *T. castaneum* (Figure 6). La lecture des résultats suggère une efficacité très remarquable qui varie entre 26.67% avec la concentration de 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ et 100% avec les concentrations 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivement.

L'examen des données de la MC% des larves de *T. castaneum* traitées avec formulations à base de l'huile essentielle de *C. citratus* indique une efficacité plus au moins intéressante. Le taux de MC% le plus faibles (13.33%) est constaté chez la population traitée avec la concentration de 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$. En revanche, les valeurs de MC% les plus élevées à savoir 80 et

1000 sont constatées chez les larves de *T. castaneum* traitées avec les concentrations 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivement.

1.3. Effet toxique des huiles essentielles sur *T. castaneum* par inhalation

L'examen des expériences effectuées sur le stade larvaire est adulte a dénoté que les formulations des huiles essentielles, le stade physiologique de l'insecte, ainsi que les concentrations ont un effet très hautement significatif sur le taux de mortalité des populations de *T. castaneum* traitées par inhalation (Figure 5). En général, l'effet insecticide a exposé différentes intensités. A cet effet, le taux de MC% est variable en fonction l'huile essentielle, la concentration et le stade physiologique de l'insecte. L'analyse des résultats expose l'efficacité de l'huile essentielle de *T. pallescens* comparée avec celle de *C. citratus*, les concentrations 75, 100 et 125 $\mu\text{L}/\text{L}$ air sont le plus efficace, est le stade adulte est le plus sensibles aux deux huiles essentielles testées (Figure). Toutefois, l'efficacité insecticide contre les adultes et les larves de *T. castaneum* est concentration dépendante, elle augmente avec l'augmentation de la concentration.

Les tests de l'activité insecticide contre les adultes de *T. castaneum* par inhalation en utilisant les huiles essentielles formulée à base de *T. pallescens* et *C. citratus* montrent des taux de mortalité très variables. Les données de la Figure 6 indiquent la sensibilité de stade adulte aux huiles essentielles de *T. pallescens* en comparaison avec celle de *C. citratus*. Cette formulation expose un taux de mortalité qui varie entre 66.66 et 100%, sachant que les concentrations 75, 100 et 125 ont provoquées un taux de mortalité total. Ces mêmes concentrations des formulations de *C. citratus* ont dénoté des taux de MC% 70, 96.67 et 86.67 %, respectivement. Cela, présente que l'huile essentielle de *C. citratus* est moins efficace en comparant avec l'huile essentielle de *T. pallescens*. Dans les deux cas, les taux de mortalité augmentent avec l'augmentation de la concentration (Figure 6).

L'huile essentielle de *T. pallescens* affecte significativement la vitalité des larves de *T. castaneum*. Les résultats obtenus montrent une activité larvicide très importante de cette formulation mais avec des degrés variables, selon la concentration appliquée. La figure indique que la valeur de MC% provoquée par cette formulation est variable entre 23.33 et 90%. Les valeurs les élevées ont été constatées chez les populations de *T. castaneum* traitées avec les concentrations 75, 100 et 125 $\mu\text{L}/\text{L}$ air, et qui sont de l'ordre de 50, 76.66 et 90%, respectivement. Par contre, la formulation de *C. citratus* a montré un intervalle d'efficacité variable entre 16.66 et 73.33% de taux de MC%, qui est inférieur en comparant avec la formulation à base de *T. pallescens*. A cet effet, les concentrations 100 et 125 μL sont les plus efficaces avec des CM% de 50 et 73.33%, respectivement.

3.4. Détermination de la DL₅₀

L'examen des valeurs des DL₅₀ des deux formulations et les deux stades physiologiques révèlent que l'huile essentielle de *T. pallescens*, est l'efficace par inhalation et par contact direct. Pour le test par inhalation, les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* ont provoqué des DL₅₀ de l'ordre de 41.74 et 62.02 µL/L air sur le stade larvaire. Cependant elles sont de l'ordre de 25 et 36.24 µL/L air pour le stade adulte, respectivement (Figure 7).

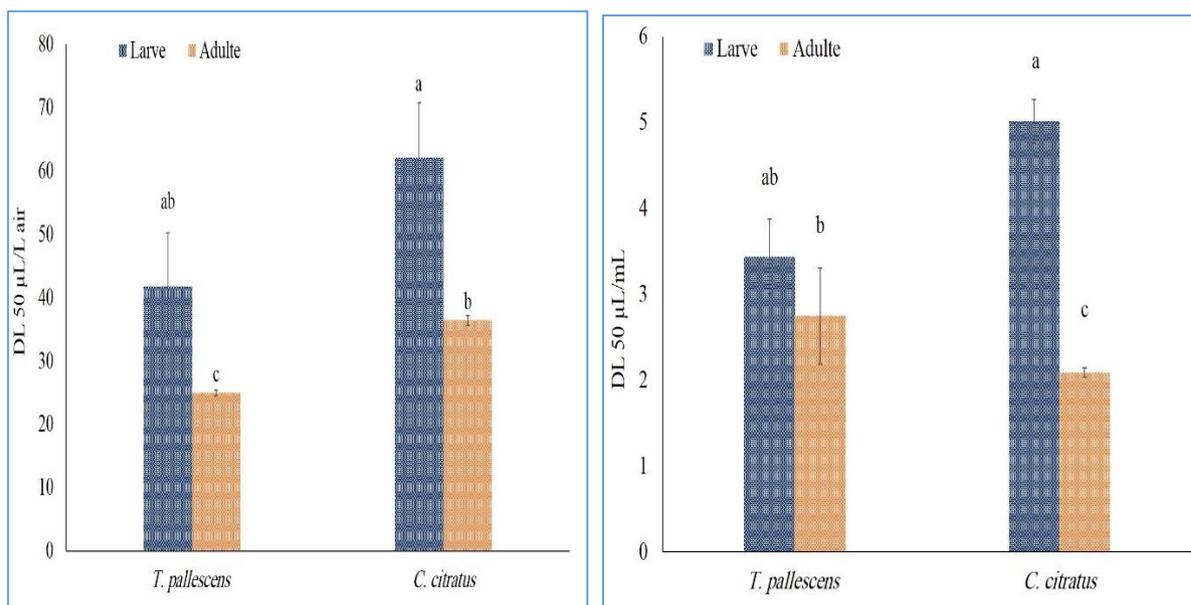


Figure 7. Résultats de la DL₅₀ des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation sur les adultes et les larves de *T. castaneum*. Les résultats représentent la Moyenne ± erreur standard. Les lettres a, b...indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$)

En parallèle, les valeurs enregistrées par contact direct sont de l'ordre de 3.44 et 5.01 µL/mL pour le stade larvaire et de 2.74 et 2.08 µL/L air, pour le stade adulte, respectivement.

3.5. Test *in vivo* et relations Temps – probabilité de survie

Dans les tests *in vivo*, le taux de survie a été déterminé pendant 60 jours après l'exposition des adultes et larve de *T. castaneum* aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* (figure 8A). La probabilité de survie varie significativement avec l'huile essentielle (test du log-rank, $\chi^2 = 174.9$, $df = 2$; $P < 0,001^*$) et le stade dans lequel l'huile a été appliquée (test du log-rank, $\chi^2 = 248.9$, $df = 2$; $P < 0,001^*$). Les résultats obtenus montrent que la probabilité de survie des adultes de *T. castaneum* a diminué de 99,9 % jusqu'à 0 % avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de 5 % avec celle *C. citratus*.

En parallèle, la probabilité de survie des larves de *T. castaneum* a été diminuée de 99.3% jusqu'à 0 % avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de 8.99% avec celle *C. citratus*. En

Chapitre II. Résultats et discussion

revanche, tous les individus des deux espèces traités sont morts entre 2 et 60 jours après l'exposition. Les temps de survie moyens (LT₅₀) des adultes de *T. castaneum* est de 8.85 et 14.41 jours pour les adultes de la population de *T. castaneum* et de 16.26 et 23.08 jours pour les larves de la même espèce traitées avec *T. pallescens* et *C. citratus*, respectivement (Figure 8B).

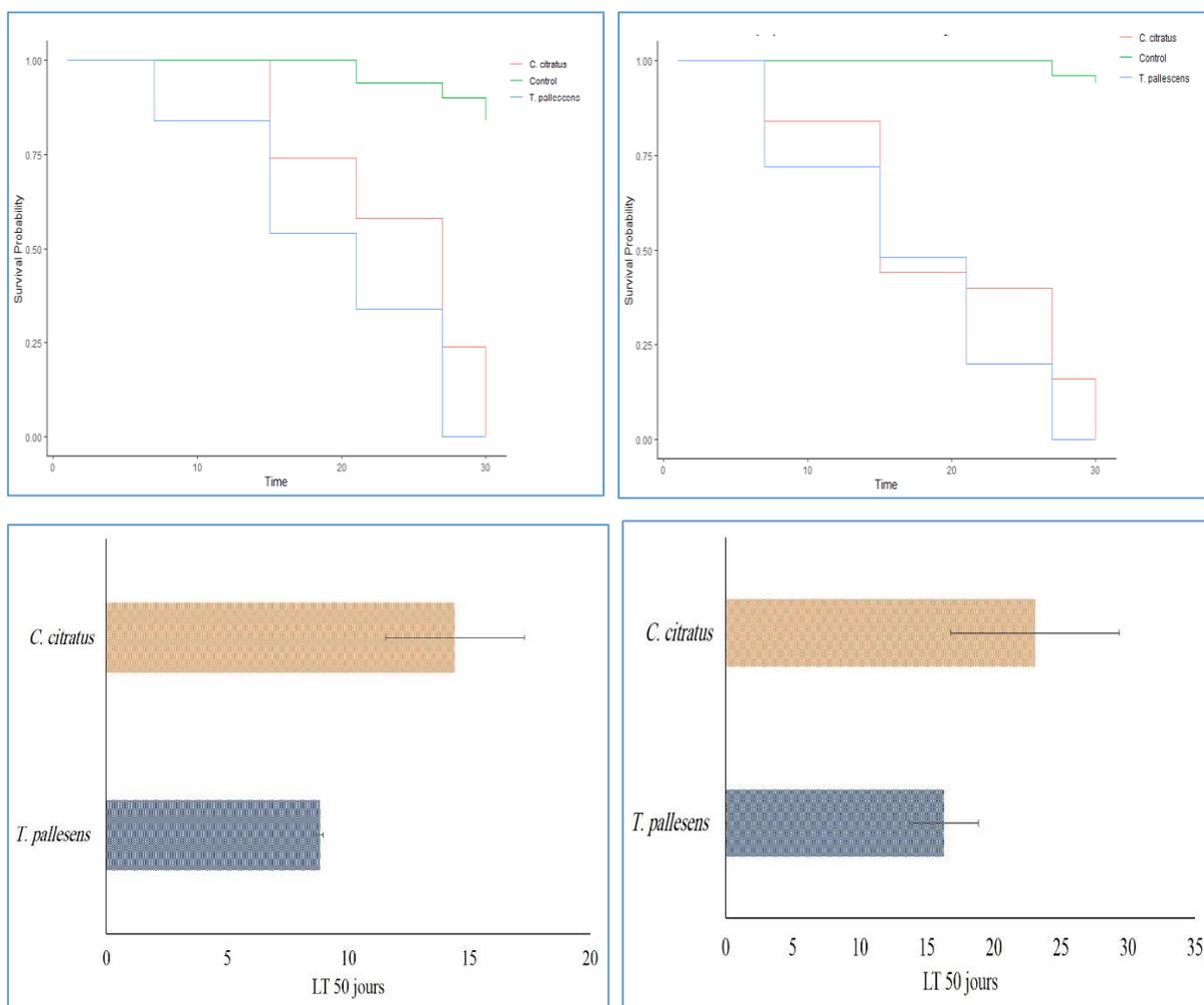


Figure 8. Courbes de la probabilité de survie des adultes de *T. castaneum* exposés à l'huile essentielle de *C. citratus* et *T. pallescens*, estimées à l'aide du test du log-rank de Kaplan-Meier. LT₅₀ pour les individus de *T. castaneum* traités avec les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* *in vivo*.

3.6. Variation quantitative des réserves énergétiques chez les adultes et les larves de *T. castaneum* traités par les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*

3.6.1. Effet sur le taux des protéines

L'analyse de données affichées sur la figure 9 expose une diminution significative des teneurs en protéines chez les individus (larves et adultes) traités avec les deux formulations et avec toutes les concentrations dans les traitements par contact et par inhalation. Chez les

Chapitre II. Résultats et discussion

adultes, une diminution qui s'étale entre 46.5 à 82.3% pour les traitements par inhalation avec l'huile de *T. pallescens* et entre 42.14 à 75.83% avec l'huile de *C. citratus*. Les larves de *T. castaneum* ont montré une diminution qui s'étale entre 33.45 à 89%% pour les traitements avec l'huile de *T. pallescens* et entre 68.17 à 73.15% avec l'huile de *C. citratus*.

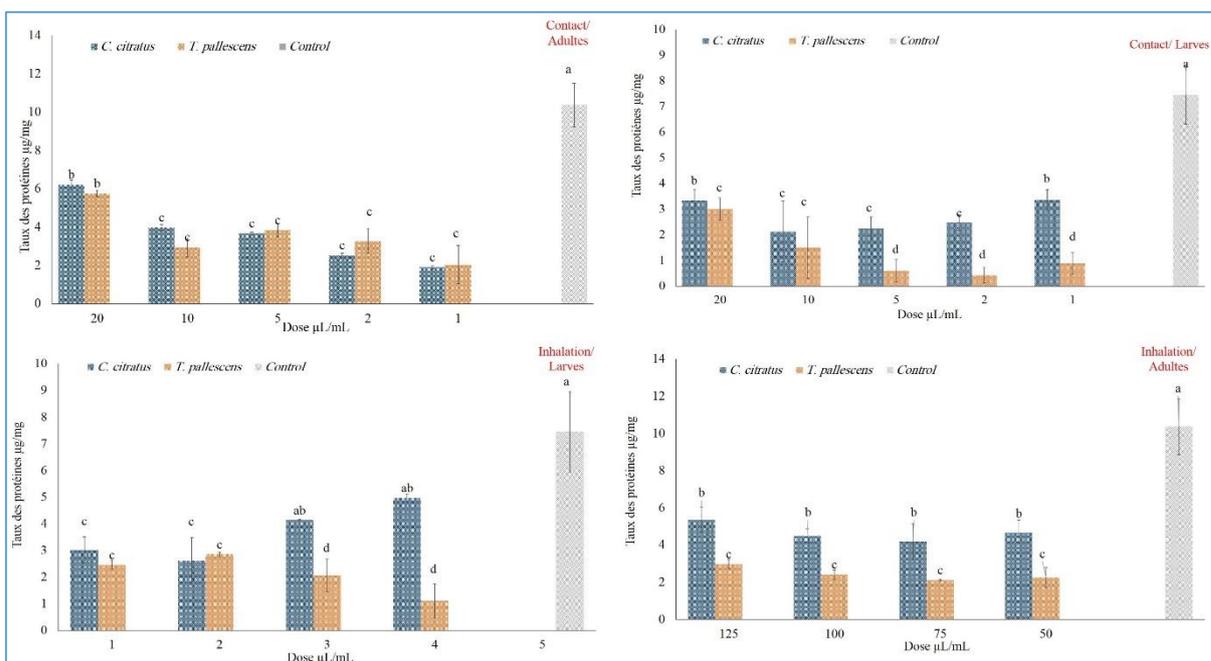


Figure 9. Variation des taux de des protéines chez les adultes et les larves de *T. castaneum* exposés aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

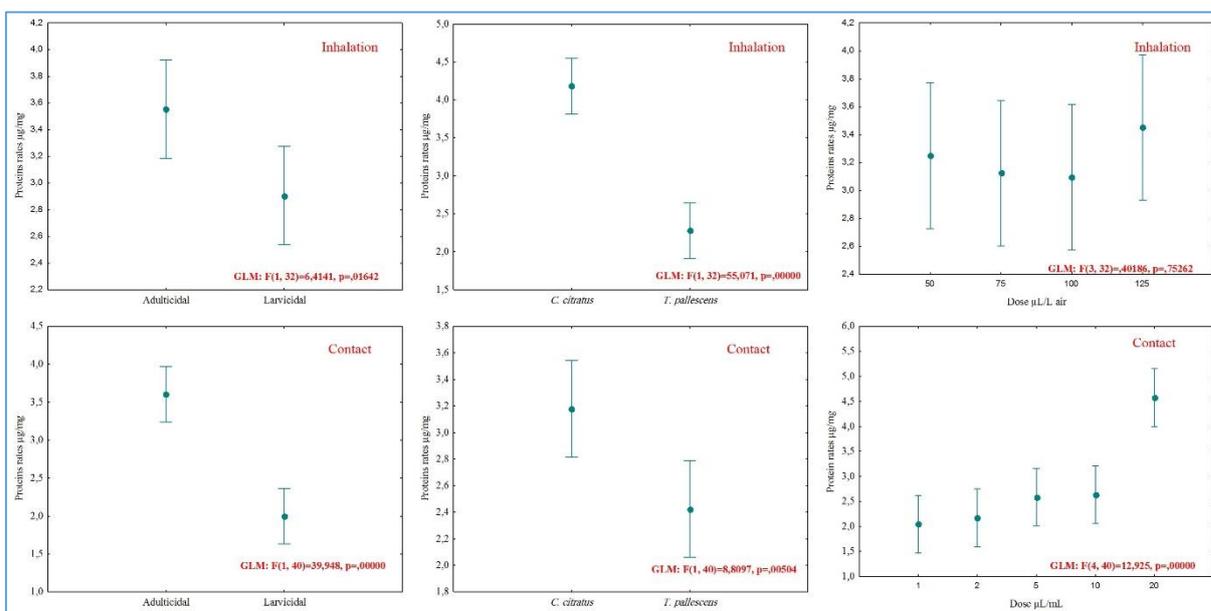


Figure 10. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des protéines, des lipides et des glucides chez les adultes et les larves de *T. castaneum* traités par les différentes concentrations des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*.

Chapitre II. Résultats et discussion

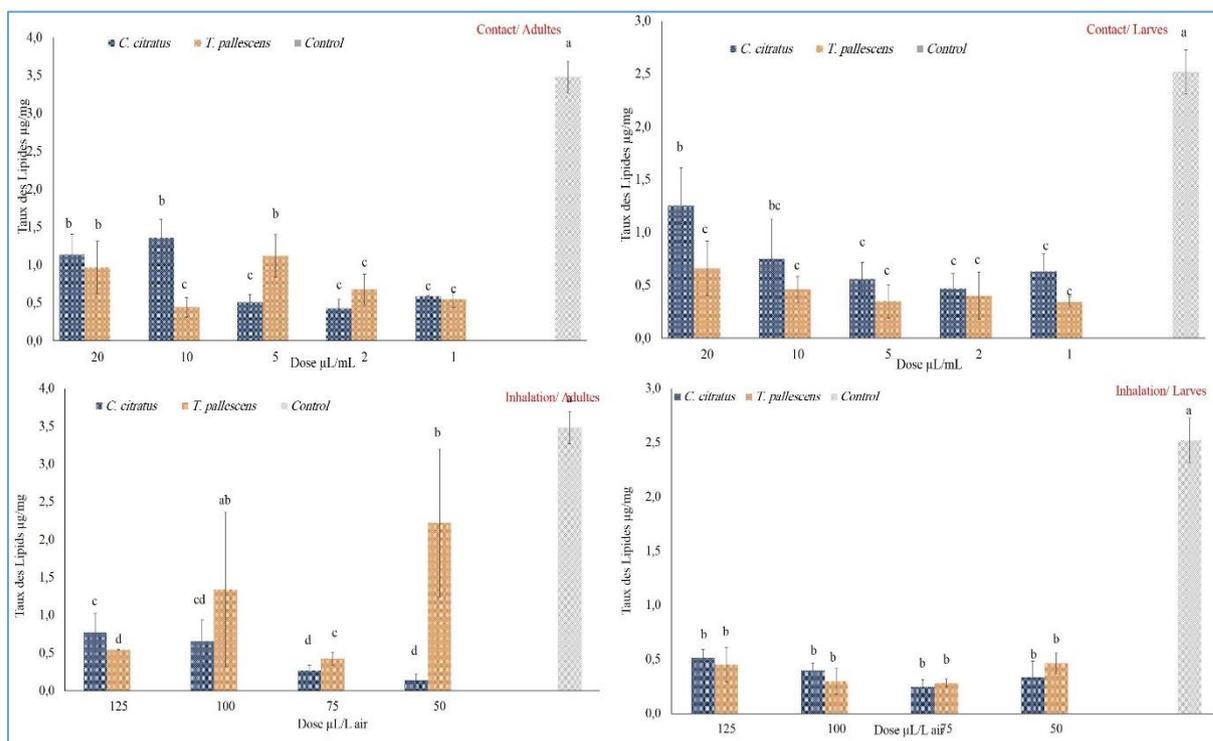


Figure 11. Variation des taux de des lipides chez les adultes et larves de *T. castaneum* exposés aux huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

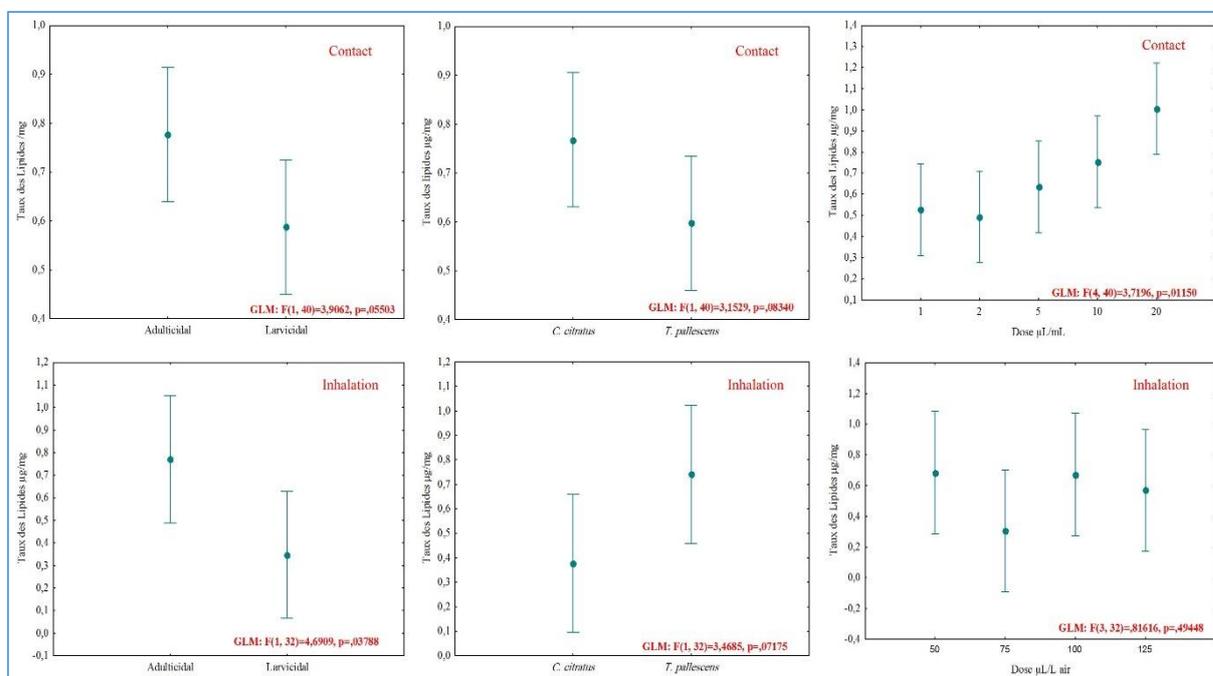


Figure 12. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des lipides chez les adultes et les larves de *T. castaneum* traités par les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus*.

Chapitre II. Résultats et discussion

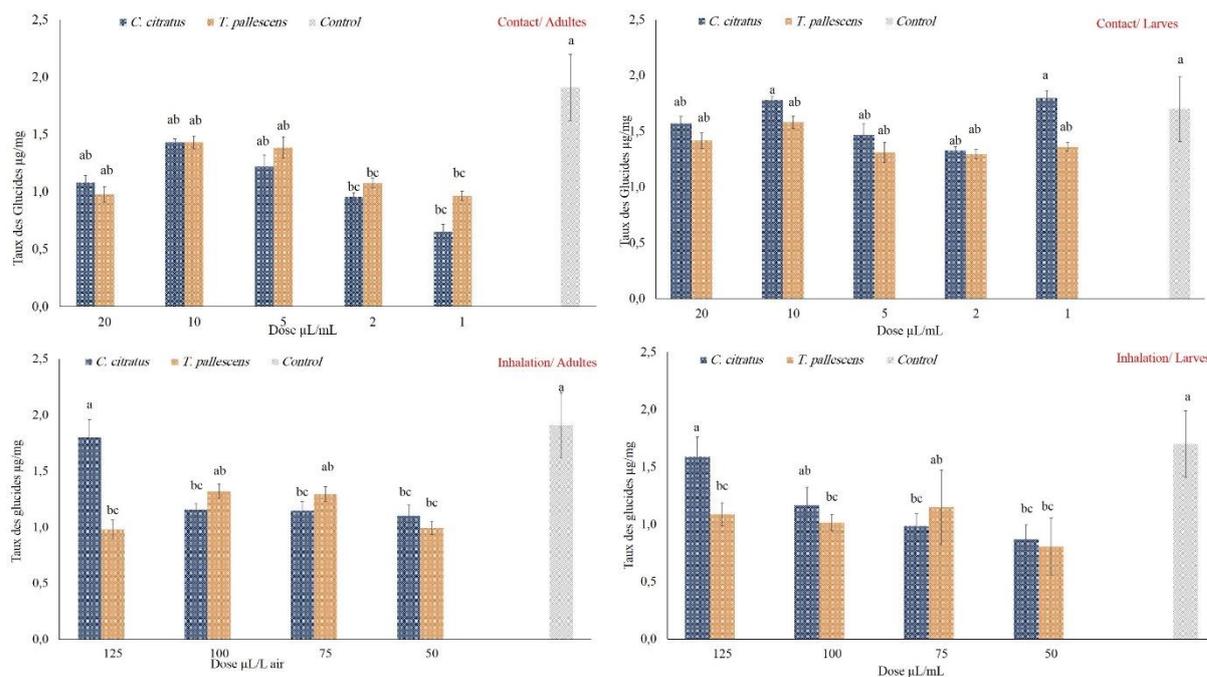


Figure 13. Variation des taux de des glucides chez les adultes et les larves de *T. castaneum* traités avec les huiles essentielles de *T. palllescens* et *C. citratus* par contact et par inhalation. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard. Les lettres a, b... indiquent la différence significative à une probabilité ($p \leq 0.05$).

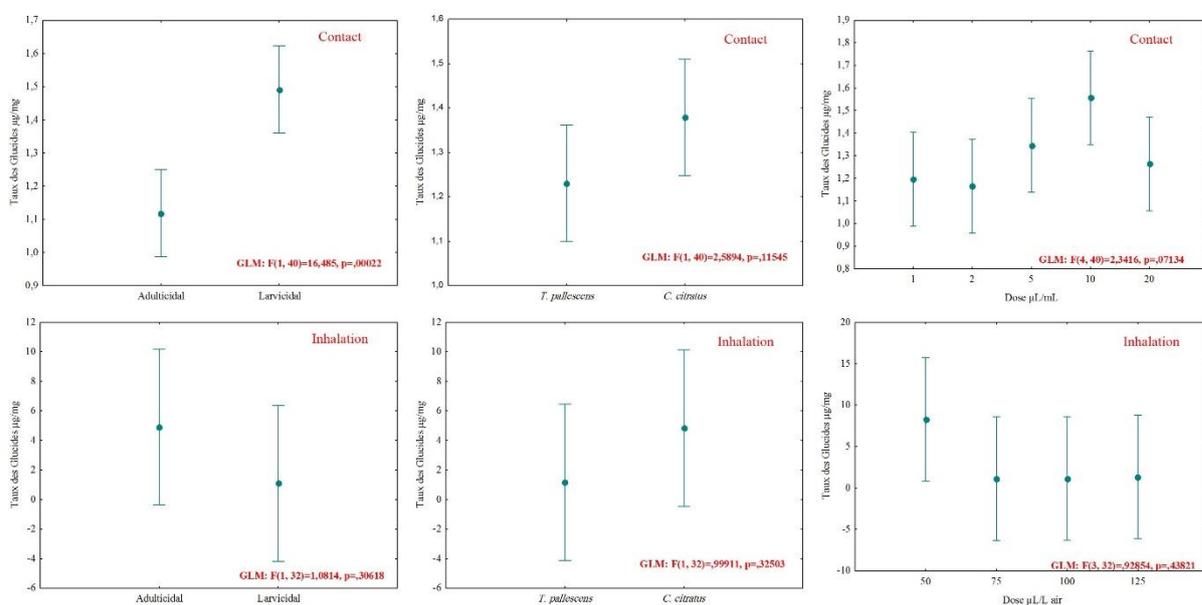


Figure 12. Effet comparé de l'huile essentielle et la dose sur le taux des glucides chez les adultes et les larves de *T. castaneum* traités par les huiles essentielles de *T. palllescens* et *C. citratus*.

Les traitements par contact ont suivies la même tendance que le traitement par inhalation. L'analyse de données affichées sur la figure 9 indique une diminution significative des teneurs en protéines chez les adultes de *T. castaneum* traités par contact avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de *C. citratus*. Cette diminution est variable entre 73.15 à 75.89% avec les traitements par *T. pallescens* et entre 44.06 et 61.42 % avec ceux de *C. citratus*. Les traitements des larves de *T. castaneum* par contact en utilisant les huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* provoquent une diminution des taux des protéines de l'ordre de 35.75 à 73.15%, respectivement.

3.6.2. Effet sur les lipides

Les teneurs en lipides ont été diminués significativement chez les individus de *T. castaneum* traités par inhalation avec les deux formulations des huiles essentielles (Figure 11). Chez les adultes traités par inhalation avec la formulation de *T. pallescens* la diminution est variée entre 42.7 à 89.52%, alors que chez les larves variées la diminution est variable entre 80.15 à 88.09%. Chez les adultes traités avec la formulation de *C. citratus* la diminution est varié entre 47.91 à 97.39%, bien que cette diminution est variable entre 80.15 à 88% exhibent une baisse considérable dans les teneurs en lipides chez les larves traités avec la même huile essentielle.

Pour les traitements par contact, une diminution des teneurs en lipides a été constatée chez les adultes et les larves traitées avec les formulations de *C. citratus* qui varié entre 60.9 à 89.5% et entre 50.3 à 80.1%, respectivement. La diminution est plus supérieure dans les teneurs en lipides chez les adultes et larves traités avec la formulation de *T. pallescens* qui s'allonge entre 73.9 à 89.5% et entre 72.2 à 84.1%, respectivement.

3.6.3. Effet sur les glucides

Les teneurs glucidiques chez les adultes de *T. castaneum* traités avec les formulations de l'huile essentielle de *C. citratus* à la concentration 125 est égale au témoin. Par ailleurs, les traitements par les doses 100, 75 et 50 ont montré une diminution très importante qui varie entre 45.30 jusqu'à 66.33%. Par ailleurs, les individus traités par la formulation de *T. pallescens* ont enregistré une diminution des teneurs glucidiques de 66.14 à 79.16 % (Figure 13). Chez les larves, l'analyse des résultats expose également une diminution des teneurs glucidiques avec des taux variables entre 40.47 à 64.28% chez les individus traités avec la formulation de *C. citratus* en comparaison par ceux traités par les formulations de *T. pallescens* qui ont montré des taux variables entre 78 et 88%.

Chapitre II. Résultats et discussion

La seule exception a été notée chez les larves traitées avec les concentrations 1 et 10 μL de la formulation de *C. citratus*, où une augmentation environ 28.75 des réserves glucidiques a été constaté.

Par ailleurs, les traitements par contact de la même population par les deux formulations ont enregistré une diminution des teneurs glucidiques chez les adultes traités par la formulation de *T. pallescens* avec des pourcentages variables entre 64.28 et 66.17 %. Cependant, les individus traités par la formulation de *C. citratus* montrent un taux de réduction variable entre 67% à 88.20%.

4. Discussion

Dans cette étude, les activités adulticides et larvicides des huiles essentielles de *T. pallescens* et *C. citratus* contre le ravageur secondaire *T. castaneum* ont été investiguées. Les deux formulations ont manifesté une activité insecticide très intéressante contre les adultes et les larves de *T. castaneum* par contact direct ou par inhalation. Cependant, l'huile essentielle de *T. pallescens* s'est avérée la plus efficace, bien que le stade adulte et le plus sensibles comparé avec le stade larvaire. L'efficacité des huiles essentielles est avérée dose dépendante, elle augmente avec l'augmentation de la concentration.

En effet, l'activité insecticide et les différences observées dans l'efficacité des huiles essentielles testées pourraient être attribuées aux différents composés bioactifs connus par leurs activités insecticides. Toutefois, cette activité est peut être variable et étroitement liée à l'activité des composés majoritaires (Pavela *et al.*, 2016), soit à l'état singulière ou lorsqu'ils sont mises en association (Ngamo et Hance 2007).

Certains chercheurs ont montré que les composés chimiques ayant un large spectre d'effet insecticide sont les phénols (1,8 cinéole, carvacrol,) les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones (camphre, citronellal), les hydrocarbures monoterpéniques (camphène, α -pinène, p-cimène) (Ahn *et al.*, 1998; Kordali *et al.*, 2008 ; Szczepanik *et al.*, 2012 ; Kumar *et al.*, 2012 ; Yildirim *et al.*, 2013 ; Pavela *et al.*, 2016 ; Park *et al.*, 2017). Dans cette étude, l'efficacité des huiles essentielles est liée principalement aux composés majoritaires qu'ils contiennent. Toutefois, les principaux composants de l'huile essentielle de *T. pallescens* étaient le carvacrol (56,64 %), le p-cymène (16,36 %) et le thymol (8,71 %) selon les travaux effectués par Moutassem *et al.* (2019) et Moutassem *et al.* (2021a). Bien que les mêmes études ont dénudé que le géraniol (20,86 %), le limonène (10,50 %) et le camphène (7,80 %) sont les principaux composants de l'huile essentielle de *C. citratus*. Des résultats similaires ont été obtenus dans des études antérieures, où le géraniol, le limonène et le camphène étaient composés les plus prédominants (Moutassem *et al.*, 2019, Bassolé *et al.*, 2011).

Chapitre II. Résultats et discussion

Dans une étude analogue, le α -pinène et le β -pinène ont présenté une toxicité plus élevée contre *T. castaneum* (García *et al.*, 2005; Olivero-Verbel *et al.*, 2010), bien que le carvacrol, thymol et *p*-cymène ont montré plus efficace contre *T. castaneum* et *Sitophilus granarius* selon Kordali *et al.* (2008). Les travaux de Benchabane *et al.* (2015) indiquent que les activités insecticides de *T. pallescens* s'accordent à sa composition très riche en thymol et en carvacrol qui sont les plus responsables de cette bioactivité. En effet, le thymol et carvacrol présentent une forte activité larvicide sur *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) avec des CL₅₀ de 36 mg.10⁻¹ et 37,6 mg.10⁻¹, respectivement (Tchoumboungang *et al.*, 2009), ce qui en accord avec nos résultats sur les l'effet larvicide sur les larves de *T. castaneum*.

Dans notre étude, le 1,8-cinéole, le linalol, l'acétate de terpinéol et le méthyl eugénol sont les composants les plus abondants de *C. citratus* selon les travaux de Mouatsem *et al.* (2019, 2021). Ces composés ont déjà été signalés comme ayant une activité insecticide et larvicide contre diverses insectes nuisibles (Kumar *et al.*, 2012; Brügger *et al.*, 2019).

En effet, nos résultats corroborent des travaux antérieures indiquant que plusieurs huiles essentielles et leurs principaux composants possèdent une activité insecticide contre *T. castaneum* (Tapondjou *et al.*, 2005 ; Kordali *et al.* 2008 ; Chu *et al.*, 2010 ; Liu *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010; Chu *et al.*, 2011 ; Abbad *et al.*, 2014 ; Badreddine et Baouindi 2016 ; Upadhyay *et al.*, 2018). Les travaux effectués par Stamopoulos *et al.* (2007) suggèrent des activités insecticides très prononcés de cinq monoterpénoïdes à savoir terpinène-4-ol, 1,8-cinéole, linalol, limonène et géraniols sous forme de vapeur sur les différents stades de *Tribolium castaneum*. De même, cinq composés à savoir 4-allyl-anisol, linalol, terpinéol, thymol et zimtaldehyde ont été prouvé très efficace contre *T. castaneum* (Ojmelukwe et Adler 1999).

Nos résultats corroborent ceux obtenus par (Sahaf *et al.*, 2007) montrent une mortalité totale de *Tribolium castaneum* à des concentrations supérieures à 185,2 μ L / L et à un temps d'exposition environ 12 h (Sahaf *et al.*, 2007). En effet, le thymol (41,34%), l' α -terpinolène (17,46%) et le *p*-cymène (11,76%) se sont révélés être les principaux constituants de toxicité par inhalation contre des adultes de *Tribolium castaneum* (Sahaf *et al.*, 2007).

De même, l'huile essentielle de *Murraya exotica* s'est avérée plus toxique par fumigation contre les adultes de *T. castaneum* avec des valeurs de CL₅₀ de 8,2 et 6,8 mg/L, est également a montré une toxicité par contact avec des valeurs de CL₅₀ de 11,41 et 20,94 μ g/adulte, respectivement (Li *et al.*, 2010). Les huiles essentielles de *Cinnamomum camphora*, *Ocimum basilicum*, *Chenopodium ambrosioides* et les graines de *Pimpinella anisum* ont montré une forte activité insecticide contre *T. castaneum* de manière dose-dépendante. Bien que, les huiles essentielles extraites des parties aériennes de *Croton heliotropiifolius* et *Croton pulegioidorus* se sont révélées extrêmement toxiques par fumigation et par contact direct contre

Chapitre II. Résultats et discussion

T. castaneum (Magalhães *et al.*, 2015). De plus, Ebadol-lahi et Taghinezhad (2019) ont démontré que l'huile essentielle isolée à partir de *Teucrium polium* a présenté une mortalité de 97,97 % par fumigation sur les adultes de *T. castaneum* avec une concentration de 20 µL/L. dans le même ordre des idées, l'huile essentielle d'*Artemisia brachyloba* a également une toxicité très remarquable sur les adultes de *T. castaneum* (CL₅₀ = 22,55–31,84 g/mg) par fumigation et par contact direct (Hu *et al.*, 2019). Une étude plus récente menée par Baccari *et al.* (2020) ont révélé que l'huile essentielle de *F. tunetana* possède une activité insecticide contre *T. castaneum* avec un test de fumigation à travers une DL₅₀ de 161,8 mL/L air. Toutefois, l'efficacité insecticides et larvicide des huiles essentielles de *Laurus nobilis*, *Citrus bergamia* et *Lavandula hybrida* (Lamiacées) a été prouvé par Cosimi *et al.* (2009) sur les adultes des charançons du maïs *Sitophilus zeamais* sur les larves des charançons du riz *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Les travaux de Tapondjou *et al.* (2005), ont évalué l'activité insecticide des huiles essentielles du cyprès et de l'eucalyptus vis-à-vis *Tribolium castaneum*, ces auteurs ont obtenus des DL₅₀ différentes pour les deux insectes appliquées par contact, ils obtiennent 0,48 µl pour *Tribolium castaneum*. L'effet insecticide des huiles essentielles de certaines plantes (*Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis.*, *Thymus vulgaris*) contre les ravageurs des denrées stockées comme: *Tribolium castaneum*. A ce titre, ces auteurs ont signalé la toxicité par contacts de l'huile essentielle d'A. herba-alba contre *T. castaneum*.

Dans la présente étude, l'effet répulsif des huiles essentielles de *T. palleescens* et de *C. citratus* sur les adultes et les larves des *T. castaneum*, a également été déterminée. Les résultats de obtenus de l'effet répulsif variaient selon les huiles essentielles, la concentration et le stade testé. L'huile essentielle de *T. palleescens* s'est avérée très répulsif par rapport à *C. citratus*. Dans des essais toxicologique antérieurs par des agents topiques application, à savoir les huiles essentielles d'*Allium sativum*, *Mentha piperitaa*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Sesamum Indicume* et *Chamaemelum nobile* les résultats obtenus montrent des effets hautement répulsifs pour l'adulte insecte par rapport aux larves (Abd El-Aziz et El-Sayed., 2009).

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 *T. castaneum* par inhalation. Nos résultats montre une que le voie par inhalation et le plus efficace comparé avec celle de contact. 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, Işıkber *et al.*, 2009). Ces résultats sont témoignés par les travaux de Stamopoulos *et al.* (2007) indiquent toxicité directe observée après l'exposition des femelles de *T. castaneum* 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

Chapitre II. Résultats et discussion

effectuées par Işıkber *et al.* (2009) ont démontré la sensibilité des œufs de, à des vapeurs des huiles essentielles de *Cinnamomum zeylanicum*, *Allium sativum* et *Pimpinella anisum* L. Les expériences de ces derniers ont montré que les vapeurs des huiles essentielles avaient un effet significatif sur les œufs des espèces d'insectes testées lorsqu'elles étaient exposées à des concentrations supérieures à des 20 µl L⁻¹ d'air pendant 24 h. Les données de toxicité ont indiqué que les œufs de *T. castaneum* étaient plus sensibles aux huiles essentielles testées, avec des valeurs de CL90 comprises entre 3,11 et 33,49 µl (Işıkber *et al.*, 2009).

La toxicité des huiles essentielles est attribuée à différents mécanismes d'action sur la morphologie et physiologie des insectes ravageurs. Des études antérieures ont montré que ces composés naturels pouvaient provoquer des symptômes indiquant une activité neurotoxique, tels que l'hyperactivité, des convulsions et des tremblements suivis de paralysie et de mort de l'insecte qui sont très similaires aux effets produits par les insecticides pyréthroïdes ().

La toxicité des huiles essentielles de *T. pallescens* et de *C. citratus* sur *T. castaneum* peut être associée à une inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE). Les preuves de cela proviennent des études d'Abdelgaleil *et al.* (2016), qui établissent que les huiles essentielles et leurs principaux composants produisent une forte inhibition de l'AChE sur diverses espèces d'insectes nuisibles telles que *S. oryzae*.

Nos résultats ont démontré que les huiles essentielles provoquant des perturbations physiologiques et métaboliques chez les insectes traités, qui pourraient expliquer le mode d'action des huiles essentielles sur les insectes. Les possessions des molécules bioactives des peuvent varier en fonction des molécules elles-mêmes, des espèces d'insectes, du test de toxicité et de la dose utilisée. Nous avons en effet remarqué que sous l'effet du traitement une diminution significative des taux de protéines, des glucides et de lipides par rapport aux témoins non traités.

La diminution de la teneur en protéines chez l'insecte ravageur a été attribuée à un ou à un ensemble de facteurs, tels que la diminution de la synthèse des protéines ou une prolifération de la dégradation des protéines pour détoxifier les molécules de principes bioactifs présents dans les HE (Vijayaraghavan *et al.*, 2010, Ranjini *et al.*, 2016). Toutefois, Yazdani *et al.* (2013) ont obtenu des résultats similaires en utilisant les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et *Origanum vulgare* sur la protéine de l'hémolymphe de la petite pyrale du mûrier *Glyphodes pyloalis*. Dans notre étude, les teneurs en glucides des insectes nuisibles testés ont diminué de manière significative sous le stress des traitements aux huiles essentielles. De plus, les insectes transforment généralement les glucides en lipides et en glycogènes (Sonmez et Gulel 2008). Cela pourrait s'expliquer par la réduction du taux de glucides et l'augmentation de la quantité de lipides chez les insectes traités. Des résultats similaires ont été obtenus par Yazdani *et al.* (2013) dans *Glyphodes pyloalis* traité avec des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et

Chapitre II. Résultats et discussion

Origanum vulgare L., ainsi que par Tarigan et Harahap (2016) dans *T. castaneum* et *Callosobruchus maculatus* traités avec des huiles essentielles de cardamome et la cannelle et muscade. Selon Morgan (2004), la couverture externe des insectes est constituée d'une couche lipidique imperméable, habituellement composée d'alcane, d'alcane ramifiés en méthyle et d'alcène. Cette couche lipidique est importante pour prévenir la déshydratation et repousser la pluie ; et chez les insectes sociaux (abeilles, guêpes et termites). Sinon, l'augmentation des taux de lipides dans l'organisme des insectes est probablement due au déclenchement de mécanismes de résistance des insectes contre le stress des huiles essentielles. Les acides gras sont des métabolites primaires, mais sont également la source de nombreux métabolites secondaires tels que les phénols et les quinones Morgan (2004). D'autres chercheurs ont indiqué l'augmentation de la teneur en lipides chez les espèces d'insectes traitées avec les huiles essentielles. Les résultats obtenus sont également en accord avec les observations d'Essaidi *et al.* (2014) qui ont découvert que l'extrait végétal des traitements de *Lantana camara* améliorait significativement la teneur en lipides de la chenille processionnaire du pin *Thaumetopea pytiocampa*. Nos résultats étaient généralement différents, selon Yazdani *et al.* (2014) concernant les teneurs en lipides sous les traitements aux huiles essentielles.

5. Conclusion

Les HE fournissent une solution efficace et écologiquement durable au contrôle des insectes nuisibles. Notre étude a montré le potentiel de la gestion. Sinon, les HE de *T. pallescens* et *C. citratus* sont potentiellement efficaces contre *T. castanum* et pourraient être utilisées comme méthode de lutte alternative "sûre" pour réduire l'impact économique causé par cet insecte ravageur. Nos résultats expriment l'effet de l'occurrence synchronisée de *T. castanum* sur l'efficacité des HE, et ont par conséquent augmenté les valeurs de CL50. De plus, les marqueurs biologiques des insectes nuisibles traités ont été affectés par les OE.

CONCLUSION

Conclusion

La recherche de nouvelles méthodes alternatives plus efficaces et moins polluantes s'avère donc nécessaire, 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 déterminer l'efficacité des huiles essentielles de *T. palleescens* et *C. citratus* comme une méthode de lutte alternative aux pesticides chimique contre un ravageur potentiel des céréales à savoir *T. castaneum*, afin de montrer l'effet de ces biomolécules sur les réserves énergétiques de ce dernier.

Les résultats obtenus montrent que les deux formulations ont manifesté des effets insecticides très remarquables sur la population de ravageur, dont l'intensité de la mortalité corrigée varie selon le type de l'huile essentielle, le stade et la dose appliquée.

L'huile essentielle de *T. palleescens* affecte significativement la vitalité des adultes de *T. castaneum*. Les résultats obtenus par contact donnent également l'effet insecticide le plus élevé noté chez les individus testés avec les concentrations 20,10 et 5 μL avec des taux de MC% environ 80, 100 et 100%, respectivement. Cependant, l'huile essentielle de *C. citratus* a montré des taux de MC% remarquable et qui varient entre 13.33 et 100%, alors que, les concentrations de 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ sont les plus efficaces avec des taux de CM% environ 80 et 100%.

La lecture des résultats des larves traitées avec formulations à base de l'huile essentielle de *T. palleescens* suggère une efficience très remarquable qui varie entre 26.67% avec la concentration de 1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ et 100% avec les concentrations 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivement. Les valeurs de MC% les plus élevées à savoir 80 et 100% sont constatées chez les larves. Par ailleurs, les tests par inhalation sur les adultes de traitées par *C. citratus* avec les concentrations 10 et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivement.

Par ailleurs, les tests par inhalation sur les adultes de *T. castaneum* par la formulation de *T. palleescens* expose un taux de mortalité qui varie entre 66.66 et 100%, sachant que les concentrations 75, 100 et 125 ont provoqué un taux de mortalité total. Ces mêmes concentrations des formulations de *C. citratus* ont dénudé des taux de MC% avec environ 70, 96.67 et 86.67 %, respectivement.

Avec la même méthode par inhalation les valeurs les plus élevées ont été constatées chez les larves de *T. castaneum* traitées par *T. palleescens* avec les concentrations 75, 100 et 125 $\mu\text{L}/\text{L}$ air, et qui sont de l'ordre de 50, 76.66 et 90%, respectivement. Par contre, la formulation de *C. citratus* a montré un intervalle d'efficacité variable entre 16.66 et 73.33% de taux de MC%.

Conclusion

D'après l'examen des valeurs des DL_{50} après 24h d'exposition des insectes aux différentes doses des huiles testés par contacte et par inhalation, on a constaté que les deux huiles essentielles agissent mieux par contact que par inhalation sur les larves et les adultes. Cependant, les valeurs les plus faibles de la DL_{50} ont été notées pour les traitements par huiles essentielles de *T. pallescens* par contact.

Dans les tests *in vivo* et la relation Temps – probabilité de survie, les résultats obtenus montrent que la probabilité de survie des adultes de *T. castaneum* a diminué de 99,9 % jusqu'à 0 % avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de 5 % avec celle *C. citratus*.

En parallèle, la probabilité de survie des larves de *T. castaneum* a été diminuée de 99.3% jusqu'à 0 % avec l'huile essentielle de *T. pallescens* et de 8.99% avec celle *C. citratus*.

La population de *T. castaneum* traitée a enregistré une diminution significative des teneurs en protéines en lipides et en glucides chez les individus traités avec les deux formulations et avec toutes les concentrations dans les traitements par contact et par inhalation chez les adultes et même chez les larves.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abbad, A., Kasrati, A., Jamali, C.A., Zeroual, S., Ba M'Hamed, T., Spooner-Hart, R. and Leach D. 2014. Insecticidal properties and chemical composition of essential oils of some aromatic herbs from Morocco. *Natural Product Research*, 28 (24): 2338–2341. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.936015>

Abbott W.S., (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.

Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Shawir, M.S. and Abou-Taleb, H.K. 2016. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilusoryzae* L. *Journal of Pest Science*, 89 (1): 219–229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0665-z>

Alzouma., Huignard., Lenga A.,1994. « Les coléoptères Bruchidae et les autres insectes ravageurs des légumineuses alimentaires en zone tropicale ». In Post-Récolte, principes et application en zone tropicale, ESTEM/AUPELF, p.79-103.

Badreddine, B.S. and Baouindi, M. 2016. Effects of *Artemisia herba-alba* essential oils on survival stored cereal pests: *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae) and *Trogodermagranarium* (Everst) (Coleoptera, Dermestidae). *Journal of Coastal Life Medicine*, 4 (5): 390–394. DOI: <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016j6-19>

Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Obame, L.C., Ilboudo, A.J., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C. and Dicko, M.H. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogoncitratius* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18 (12): 1070–1074. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.05.009>

Benchabane, O., Hazzit, M., Mouhouche, F. and Baaliouamer, A. 2015. Influence of Extraction Duration on the Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil of *Thymus palleescens* de Noé. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40 (7): 1855–1865. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1694-x>

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

Bradford, M.M. 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. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-)

Brügger, B.P., Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Castro, B.M. de C. e., Soares, M.A., Wilcken, C.F., Carvalho, A.G., Serrão, J.E. and Zanuncio, J.C. 2019. Bioactivity of the *Cymbopogoncitratius* (Poaceae) essential oil and its terpenoid constituents on the predatory bug, *Podisusnigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports*, 9 (1): 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44709-y>

Références bibliographiques

Camara A., 2009. Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales thèse du doctorat pp 173

Chu, S.S., Feng Hu, J. and Liu, Z.L. 2011. Composition of essential oil of Chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Pest Management Science*, 67 (6): 714–718. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.2112>

Chu, S.S., Liu, Q.R. and Liu, Z.L. 2010. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38 (4): 489–492. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.04.011>

Cosimi S., Rossi E., Cioni P., Canale A., (2009). Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-products pest: evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 45(2), 125–132.

Danho M., Haubruge E., (2003). Comportement de ponte et stratégie reproductive de *Sitophilus zeamais* [Coleoptera : Curculionidae]. *Phytoprotection*, 84(2) ,59-67.

de Araújo, A.M.N., Faroni, L.R.D., de Oliveira, J.V., do Amaral Ferraz Navarro, D.M., Silva Barbosa, D.R., Breda, M.O. and de França, S.M. 2017. Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. *Journal of Pest Science*, 90 (2): 589–600. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0822-z>.

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

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), 137-14

Fleurat L. F., 1994. « Écophysiologie des Arthropodes nuisibles aux stocks de céréales en Afrique tropicale ». In *Post-Récolte, principes et application en zone tropicale*, ESTEMIAUPELF Verstraet en, 1-61.

García, M., Donadel, O.J., Ardanaz, C.E., Tonn, C.E. and Sosa, M.E. 2005. Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. *Pest Management Science*, 61 (6): 612–618. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.1028>

Références bibliographiques

Hu, J., Wang, W., Dai, J. and Zhu, L. 2019. Chemical composition and biological activity against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Artemisia brachyloba* essential oil. *Industrial Crops and Products*, 128: 29–37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.076>.

Işıkber A.A Işıkber N., ÖzderNihal Ozgur S. 2009. Susceptibility of eggs of *Tribolium confusum*, *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella* to four essential oil vapors. *Phytoparasitica*, 37(3):231-239. DOI: 10.1007/s12600-009-0035-6

Işıkber A.A., Mehm A., Kanat M., Karci A. 2006. Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica* 34(2):167-177. DOI: 10.1007/BF02981317

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.

Kotan R., Kordali S., Cakir A., Kesdek M., Kaya Y., Kilic H.,(2008).Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea*DC. ex Benth. *Biochem Syst Ecol.*36(5-6), 360-368.

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. and Satya, S. 2012. Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1,8-cineole). *Parasitology Research*, 112 (1): 69–76. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3105-5>

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. and Satya, S. 2013. Housefly (*Muscadomestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1,8-cineole). *Parasitology Research*, 112 (1): 69–76. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3105-5>

Li, W.Q., Jiang, C.H., Chu, S.S., Zuo, M.X. and Liu, Z.L. 2010. Chemical composition and toxicity against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* of the essential oil of *Murrayaexotica* aerial parts. *Molecules*, 15 (8): 5831–5839. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules15085831>

Liu, Z.L., Chu, S.S., Liu and Q.R. 2010. Chemical composition and insecticidal activity against *Sitophilus zeamais* of the essential oils of *Artemisia capillaries* and *Artemisia mongolica*. *Molecules*, 15 (4): 2600–2608. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules15042600>

Magalhães, C.R.I., Oliveira, C.R.F., Matos, C.H.C., Brito, S.S.S., Magalhães, T.A. and Ferraz, M.S.S. 2015. Insecticidal potential of essential oils on *Tribolium castaneum* in stored corn (in Portugais). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 17 (4): 1150–1158. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_003

Références bibliographiques

Markham R.H., Bosque P. N.A., Borgemeister C., Meikle W.G., 1994. « Developing pest management strategies for *Sitophilus zeamais* and *Prostephanus truncatus* » Tropics FAO plan prot. 42:97-116.

McDonald LL, Guy RH, Speirs RD. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Research Report of agriculture, p8

Mikami, A.Y., Carpentieri-Pípolo, V. and Ventura, M.U. 2012. Resistance of Maize Landraces to the Maize Weevil *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). Neotropical Entomology, 41 (5): 404–408. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0054-8>

Morgan, E. D. 2004. Biosynthesis in Insects. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 226pp.

Moutassem D., Bellik Y., Sennel 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>

Olivero-Verbel, J., Nerio L.S. and Stashenko, E.E. 2010. Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. Pest Management Science, 66 (6): 664–668. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.1927>

Pacheco I.A., Sarton M.R., Taylor R.W., 1990. Levantamento de resistencia de insetos-pragas de graos armazenados a fofina no Estado de sao Paulo. Coletanea do ITAL. 20(2), 144-154.

Park, J.H., Jeon, Y.J., Lee, C.H., Chung, N. and Lee, H.S. 2017. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. Scientific Reports, 7: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep40902>

Pavela, R., Žabka, M., Bednář, J., Tříška, J. and Vrchotová, N. 2016. New knowledge for yield, composition and insecticidal activity of essential oils obtained from the aerial parts or seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Industrial Crops and Products, 83: 275–282. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.021>

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

Références bibliographiques

Proctor D.L., (1994). *Grain storage techniques Evolution and trends in developing countries*. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 224p.

Rajashekar Y., Gunasekaran N., Shivanandappa T., 2010. Insecticidal activity of the root extract of *Decalepis hamiltonii* against stored product insect pests and its application in grain protection. *J Food Sci Technol* 47 :310–314

Ranjini, K.D., Ranjini, K.R., Beegum, T.P.N. and Nambiar, J.G. 2016. Botanical extracts influence the protein and free amino acid concentration of fat body in the mango leaf webber *Orthaga exvinacea* Hampson (Lepidoptera : Pyralidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4 (1): 464–468.

Relinger L.M., Zettler J.L., Davis R., Simonaitis R.A., 1988. «Evaluation of pirimiphos methyl as a protectant for export grain». *J Econ. Ent.*, 81: 718-21.

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

Sartori, M. R., Pacheco; I. A. Iaderosa M., Taylor. R. W. D. 1990. Ocorrência e especificidade de resistência ao inseticida malation em insetos- pragas de grãos armazenados no Estado de São Paulo. *Coletânea do ITAL* 20: 94–209.

Shaaya E., Kostjukovski M., Eilerg J., Sukprakarn C., (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research*. 33 (1), 7-17.

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.

Stamopoulou D.C., Damos P., Karagianidou. G. 2007. Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 43(4):571-57. DOI: 10.1016/j.jspr.2007.03.007

Szczepanik M., Zawitowski B., Szumny A., (2012). Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *Allelopathy J.* 30, 129-142.

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>

Références bibliographiques

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

Tchoumboungang F., Jazet Dongmo P.M., Sameza Modeste L., Fombotioh N., Wouatsa N.A.V., Amvam Zollo P.H., Menut C. 2009. Comparative essential oils composition and insecticidal effect of different tissues of *Piper capense* L., *Piper guineense* Schum. et Thonn., *Piper nigrum* L. and *Piper umbellatum* L. grown in Cameroon. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (3), pp. 424-431.

Trematerra p., Sciarreta A., Tamasi E., 2000. Behavioural responses of *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* to naturally and artificially damaged durum wheat kernels *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94: 195–200

Upadhyay, N., Dwivedy, A.K., Kumar, M., Prakash, B. and Dubey, N.K. 2018. Essential Oils as Eco-friendly Alternatives to Synthetic Pesticides for the Control of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 21 (2): 282–297. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1459875>

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

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

Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Kavitha, Z. and Sivasubramanian, P. 2010. Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crociodolomia binotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides*, 3: 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 du Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks, *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(3), 1157-1167.

Yazdani, E., Sendi, J.J. and Hajizadeh, J. 2014. Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *glyphodes pyloalis* walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54 (1): 53–61. DOI: <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0008>

Yazdani, E., Sendi, J.J. and Hajizadeh, J. 2014. Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *glyphodes pyloalis* walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54 (1): 53–61. DOI: <https://doi.org/10.2478/jppr-2014-0008>

Références bibliographiques

Yildirim, E., Emsen, B. and Kordali, S. 2013. Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Applied Botany and Food Quality, 86 (1): 198–204. DOI: <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.027>

Yildirim, E., Emsen, B. and Kordali, S. 2013. Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Applied Botany and Food Quality, 86 (1): 198–204. DOI: <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.027>

Zhanda, J., Mvumi, B.M. and Machezano, H. 2020. Potential of three enhanced diatomaceous earths against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Prostephanus truncatus* (Horn) on stored maize grain. Journal of Stored Products Research, 87: 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101608>