



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie
Département : Biologie des Êtres Vivants



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Spécialité : ECOPHYSIOLOGIE ANIMALE

Thème

Effet d'une molécule bioactive sur un insecte
d'intérêt économique


Présenté par :

- ❖ Melle SAADI Chafia
- ❖ Melle MAHIDDINE Refka

Membres de Jury :

Pr. TINE-DJEBBAR Fouzia	U. Larbi Tébessi-Tébessa	Rapporteur
Pr. TINE Samir	U. Larbi Tébessi-Tébessa	Président
Pr. TALEB Salima	U. Larbi Tébessi-Tébessa	Examineur

Année universitaire : 2022/2023



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Nous remercions en premier lieu notre dieu ALLAH le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il nous a donné pour l'achèvement de cette mémoire.

Nous tenons tout particulièrement à exprimer nos plus vifs remerciements et notre profonde Gratitude pour notre encadrante Pr. TINE DJEBBAR Fouzia Professeur au Département de Biologie des êtres vivants, Université de Tébessa) pour tous ses précieux conseils, pour son écoute active, sa disponibilité.

Nous adressons aussi tous nos remerciements à M. Samir TINE (Professeur au Département de Biologie des êtres vivants, Université de Tébessa) qui nous encourage toujours à progresser.

Nous avons tout le plaisir et l'honneur de la présence de Mme. TALEB Salima (Professeur au Département de Biologie Appliquée, Université de Tébessa), qui a bien voulu accepter d'être membre du jury et de nous faire l'honneur de juger ce travail. On lui dit merci de tout Cœur.

Nos remerciements s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la Réalisation de ce travail.

Merci



A mes chers parents pour tous leurs sacrifices leur



Dédicace



- ❖ *A mes chers parents (Naccer eddine et Sabah), pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*
- ❖ *A mes chères sœurs (Dhikra et Samia) pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*
- ❖ *A mes chers frères, (Taki Eddine, Omar et Abd Eraouf), pour leur appui et leur encouragement,*
- ❖ *A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,*
- ❖ *A Melle SOLTANI Meriem.*
- ❖ *A mes fidèles amis, et tout équipe de laboratoire.*
- ❖ *A toutes les personnes qui me respectent et qui m'aiment.*

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués,
et le fruit de votre soutien infailible,
Merci d'être toujours là pour moi.*

Saadi Chafia



Dédicace

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour:

- ❖ *A mes chers parents pour leur soutiens, que dieu les préserve longue vie.*
- ❖ *A ma sœur et mon frère.*
- ❖ *A mes cousines.*
- ❖ *Une spéciale dédicace à ma chère encadrante Pr
TME Djebbar Fouzia.*
- ❖ *Et finalement je le dédie à Mme H L A M M A
Samira, Mme B E N K H D J M Khouloud et Melle
S O L T A N M Meriem.*

M A H I D D I M E Rifka



Liste des matières



Liste des matières

Titres	pages
I. INTRODUCTION	1
II. MATERIEL ET METHODES	5
2.1. Présentation de l'insecte, <i>Trogoderma granarium</i>	5
2.2. Techniques d'élevage au laboratoire	6
2.3. Présentation de la molécule bioactive, menthol	6
2.4. Traitement et bioessais	7
2.4.1. Toxicité par fumigation	7
2.5. Test de répulsion	7
2.6. Test de l'émergence	9
2.7. Extraction et dosage des constituants biochimiques	9
2.7.1. Dosage des protéines totales	10
2.7.2. Dosage des glucides totaux	10
2.7.3. Dosage des lipides totaux	11
2.8. Dosage des enzymes digestives	13
2.8.1. Dosage de l' α -amylase	13
2.8.2. Dosage de la chitinase	13
2.8.3. Dosage de la lipase	14
2.8.4. Dosage de la protéase	14
2.9. Dosage des biomarqueurs	14
2.9.1. Glutamate pyruvate transaminases (TGP)	15
2.9.2. Transaminase glutamate oxaloacétate (TGO)	15
2.9.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)	16
2.10. Dosage des triglycérides	16
2.11. Dosage de l'estérase	17
2.12. Détermination des indices nutritionnels	17
2.13. Analyses statistiques	18
III. RESULTATS	20
3.1. Essai insecticide du Menthol	20
3.2. Effet répulsif du menthol	21

Liste des matières

3.3. Effet du Menthol sur le taux d'inhibition de l'émergence	22
3.4. Effet du Menthol sur la composition biochimique	23
3.5. Effet du Menthol sur les enzymes digestives	14
3.6. Effet du menthol sur les biomarqueurs physiologiques	25
3.7. Effet du menthol sur l'activité de l'α-estérase	28
IV. DISCUSSION	31
4.1. Toxicité	31
4.2. Pouvoir répulsif	32
4.3. Effet du traitement sur l'émergence	33
4.5. Effet du Menthol sur le métabolisme intermédiaire	24
4.6. Effet du Menthol sur le biomarqueur de détoxification	37
4.7. Effet du Menthol sur les enzymes digestives	40
4.8. Effet du Menthol sur les indices nutritionnels	43
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	45
VI. RESUME	48
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	52



Liste des tableaux



Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Classification systématique de <i>Trogoderma granarium</i>	5
Tableau 2	Classement de Mc Donald <i>et al.</i> (1970) selon les pourcentages de répulsion	8
Tableau 3	Dosage des protéines totales chez les adultes de <i>T. granarium</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	10
Tableau 4	Dosage des glucides totaux chez les adultes de <i>T. granarium</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	11
Tableau 5	Dosage des lipides totaux chez les adultes de <i>T. granarium</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	11
Tableau 6	Toxicité du Menthol appliqué par fumigation ($\mu\text{l/l}$ d'air) sur les larves de <i>T. granarium</i> à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ($m \pm \text{SEM}$, $n= 8$ répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.	20
Tableau 7	Pourcentage (PR) et classe (CR) de répulsion du Menthol à l'égard des larves de <i>T. granarium</i> à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ($m \pm \text{SEM}$, $n= 4$ répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.	21
Tableau 8	Pourcentage (PR) et classe (CR) de répulsion du Menthol à l'égard des larves de <i>T. granarium</i> à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ($m \pm \text{SEM}$, $n= 4$ répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.	21



Liste des figures



Figure	Titre	Page
Figure 1	Larve de <i>Trogoderma granarium</i> .	5
Figure 2	Molécule bioactive, le Menthol (Photo personnelle).	6
Figure 3	Test de toxicité par fumigation (Photos personnelle).	7
Figure 4	Test de répulsion (Photos personnelle).	8
Figure 5	Test d'émergence (photos personnelles).	9
Figure 6	Extraction des protéines, glucides, et lipides totaux selon Shibko <i>et al.</i> (1967).	12
Figure 7	Kit de TGP (Photo personnelle).	15
Figure 8	Kit de TGO (Photo personnelle).	16
Figure 9	Kit de PAL (Photo personnelle).	16
Figure 10	Kit de triglycérides (Photo personnelle).	17
Figure 11	Effet du Menthol appliqué par fumigation sur les larves de <i>T. granarium</i> à différentes périodes : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	21
Figure 12	Effet du menthol (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le taux d'inhibition de l'émergence (%) chez <i>T. granarium</i> (m ± SEM, n=15 répétitions, comportant chacune 10 individus).	22
Figure 13	Effet du Menthol (CL ₂₅ et CL ₅₀) appliqué par fumigation sur le contenu en protéines (A), lipides (B) et glucides (C) chez les larves de <i>T. granarium</i> à 72 h après traitement (m ± SEM, n=4 répétitions, comportant chacune 10 individus).	24
Figure 14	Effet du menthol (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur l'activité de l'α- amylase (A), lipase (B), protéase (C) et chitinase (D) chez les larves de <i>T. granarium</i> à 72 h après traitement (m ± SEM, n=4 répétitions, comportant chacune 10 individus).	25
Figure 15	Effet du Menthol (CL ₂₅ et CL ₅₀) appliqué par fumigation sur les biomarqueurs physiologiques : PAL (A), TGP (B), TGO (C) et Triglycérides (D) chez les larves de <i>T. granarium</i> à 72 h après traitement (m ± SEM, n=4 répétitions, comportant chacune 10 individus).	27
Figure 16	Effet du Menthol (CL ₂₅ et CL ₅₀) appliqué par fumigation sur l'activité de l'α-estérase chez les larves de <i>T. granarium</i> à 72 h après traitement (m ± SEM, n=4 répétitions, comportant chacune 10 individus).	28
Figure 17	Effet du Menthol sur les indices nutritionnels chez les larves de <i>T. granarium</i> (m ± SEM ; n=4 répétitions comportant chacune 10 individus).	29



Introduction



I. INTRODUCTION

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun, 2009). En effet, elles fournissent plus de 60% de l'apport calorique, et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire nationale.

Le bon stockage et la bonne conservation ont pour but de préserver au maximum les qualités des grains et des graines. Les pertes sont essentiellement dues aux insectes, aux rongeurs, aux moisissures et aux bactéries. Chaque année, près de 20000 espèces d'insectes menacent la production mondiale et détruisent une bonne partie des céréales et des légumineuses; elles dégradent la qualité nutritionnelle et organoleptique du produit stocké et qui mènent jusqu'à la perte totale du produit (Alzouma, 1995).

Pour lutter contre ces insectes, deux méthodes sont préconisées, l'une est de nature préventive et se pratique avant l'installation des ravageurs et la deuxième, de type curatif, est utilisée quand les lots sont déjà infestés. La lutte préventive se traduit par des mesures sanitaires avant la réception des denrées, entre autres, le traitement des équipements et l'hygiène du bâtiment et ses alentours. La lutte curative consiste à intervenir directement contre les ravageurs en place. Elle comprend la lutte physique, biologique et chimique. La lutte chimique s'effectue par le traitement des denrées soit par des insecticides de contact tels que les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoïdes ou par des fumigants comme le bromure de méthyle et le tétrachlorure de carbone (Amellal, 1980; Appert, 1985).

Mais l'utilisation abusive de ces derniers a provoqué l'apparition des phénomènes de résistances, la pollution et l'atteinte de la santé humaine (Ali *et al.*, 2017). Ces dangers ont conduit l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques. Face à cette situation, la recherche de méthodes alternatives de protection des denrées stockées par l'usage de substances naturelles actives, non

polluantes dans le cadre d'une lutte moins nocive et plus raisonnée, s'avère nécessaire (Camara, 2009). L'utilisation des plantes aromatiques et leurs constituants représentent actuellement une solution alternative prometteuse dans la lutte contre ces insectes ravageurs (Erler, 2005 ; Khani & Rahdari, 2012 ; Jayaram *et al.*, 2022). Leur toxicité s'exprime de différentes manières : activités ovicide, larvicide (Pavela, 2004), perturbation de la croissance des insectes (Pavela *et al.*, 2004), diminution de la fécondité et de la fertilité (Pavela, 2005). Ils peuvent agir aussi comme des fumigants (Kheloul *et al.*, 2020), des insecticides de contact (Aryani & Auamcharoen, 2016) et des répulsifs (Hossain & Khalequzzaman, 2018; Ebrahimifar *et al.*, 2021) .

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée dans **une première partie** à l'évaluation de la toxicité et du pouvoir répulsif d'une molécule bioactive, le menthol à l'égard des larves de *Trogoderma granarium*.

La deuxième partie vise à déterminer l'effet de cette molécule sur les biomarqueurs enzymatiques (TGP, TGO, Phosphatase alcaline et Triglycérides) et de détoxification (estérase) chez les larves de *Trogoderma granarium*.

La troisième partie examine les effets létaux (CL₂₅ et CL₅₀) de la molécule bioactive, le menthol sur les réserves nutritionnelles (protéines, glucides et lipides) chez cette espèce.

La quatrième partie vise à évaluer les effets létaux (CL₂₅ et CL₅₀) de la molécule bioactive, le menthol sur les enzymes digestives (Lipase, α -amylase, protéase et chitinase) et les indices nutritionnels.



Materiel et methodes



II. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation de l'insecte

Trogoderma granarium ravageur secondaire de la famille des dermestidés (Dermestidae) (Tableau 1). C'est un petit insecte, ovale de 1,5 à 3 mm de long. Il est densément couvert de poils. Les élytres couvrent l'abdomen. Les antennes ont l'extrémité nettement plus développée. Ce coléoptère est l'un des ravageurs les plus notoires des céréales stockées dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales du monde (Ahmedani *et al.*, 2011). Les larves sont brun-jaunâtre, en forme de fuseau et recouverte d'abondantes touffes de poils (Fig. 1). Elles sont capables de résister très longtemps à de mauvaises conditions de l'environnement (Maisonneuve & Larose, 1985).

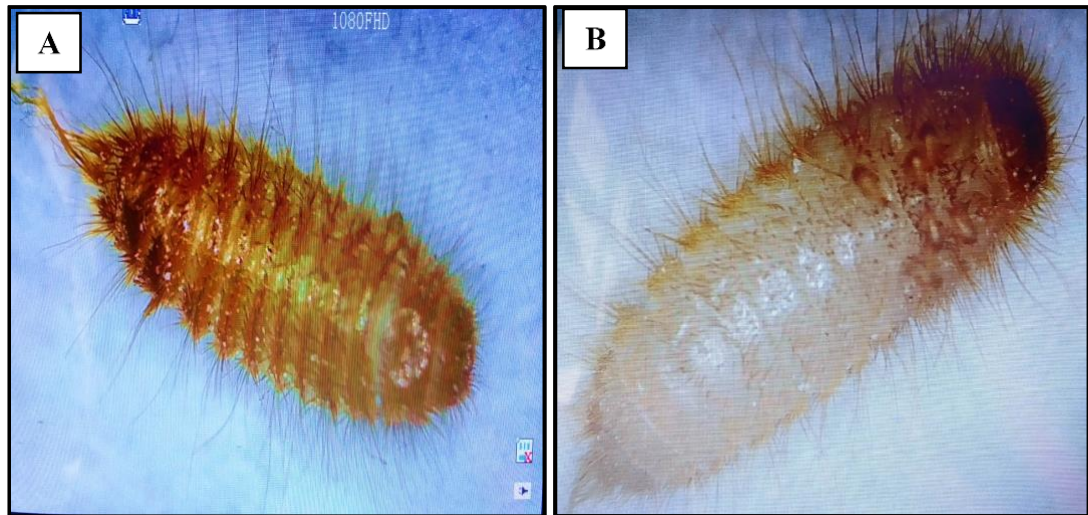


Figure 1. Larve de *Trogoderma granarium* (A: Face dorsale; B: face ventrale) (Photos personnelles).

Tableau 1. Classification systématique de *Trogoderma granarium* (Everts, 1898).

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Ordre	Coleoptera
Sous-ordre	Polyphaga
Super-famille	Bostrichoidea

Famille	Dermeestidae
Genre	Trogoderma
Espèce	<i>Trogoderma granarium</i> (Everts, 1898)

2.2. Techniques d'élevage au laboratoire

L'élevage de masse de *Trogoderma granarium* a été réalisé au Laboratoire Eau et Environnement à l'Université de Tébessa, dans des bocaux en plastique (2L) dont chacun contient 1kg de blé concassé non infesté et non traité, utilisé comme substrat alimentaire. Le criblage a été effectué à l'aide d'un tamis de 2 mm (Fig. 4). L'élevage est maintenu à une température de 27 ± 1 °C, et les larves sont utilisées pour toutes les expérimentations.

2.3. Présentation de la molécule bioactive, le Menthol

Le Menthol est une molécule organique que l'on retrouve principalement dans les huiles essentielles de la menthe, la plus connue est la menthe poivrée. Il est de la famille des alcools monoterpéniques. Il est sous forme solide avec une couleur blanche (Fig. 2). Il possède des propriétés antivirales et anti-inflammatoires.



Figure 2. Molécule bioactive, le Menthol (Photo personnelle).

2.4. Bioessai par fumigation

Après un screening préalable, le menthol dissout dans l'acétone (3%) a été appliqué à différentes concentrations : 19,2 ; 38,4 ; 76,8 ; 153,6 et 200 $\mu\text{l/L}$ d'air sur un disque de papier filtre de 2 cm de diamètre, suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle. Le traitement a été appliqué dans des pots en plastiques d'une capacité de 60 ml contenant chacune 3g de blé sain et 10 individus. Cinq répétitions ont été réalisées pour chaque concentration (Fig. 3). Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent uniquement du solvant. Les mortalités enregistrées à 24, 48 et 72h après traitement sont corrigées selon la formule d'Abbott (1925) et les concentrations létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM7.



Figure 3. Test de toxicité par fumigation (Photo personnelle).

2.5. Test de répulsion

Ce test est utilisé pour calculer le pourcentage de répulsion du Menthol à l'égard des larves de *Trogoderma granarium*, par la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par McDonald et al. (1970). Des disques de papier filtre de 9 cm de diamètre, sont coupés en deux parties égales, une moitié du papier est traitée avec le Menthol dissout dans de l'acétone et l'autre moitié est traitée avec de l'acétone uniquement (Fig 4).

Des doses de 20 $\mu\text{l/ml}$, 40 $\mu\text{l/ml}$ et 80 $\mu\text{l/ml}$ du Menthol sont diluées dans 1 ml d'acétone, pour que la répartition soit homogène sur le papier filtre. Les deux demi disques de papier filtre sont séchés à l'air libre et le disque est reconstitué puis mis dans une boîte de pétri. Dix individus sont déposés sur le papier filtre

au milieu des boîtes de pétri et trois répétitions sont réalisées pour chaque dose. Après 15 min, 30min, 1h, 2h et 3h de traitement, le dénombrement des individus sur les demi-disques est réalisé. Le pourcentage de répulsion (PR) est ainsi calculé selon la formule utilisée par Nerio et al. (2009) comme suit :

$$PR (\%) = [(NC-NT) / (NC+NT)] \times 100$$

NC : Nombre d'insectes présents sur le demi-disque traité uniquement avec l'acétone.

NT : Nombre d'insectes présents sur le demi-disque traité avec le Menthol.

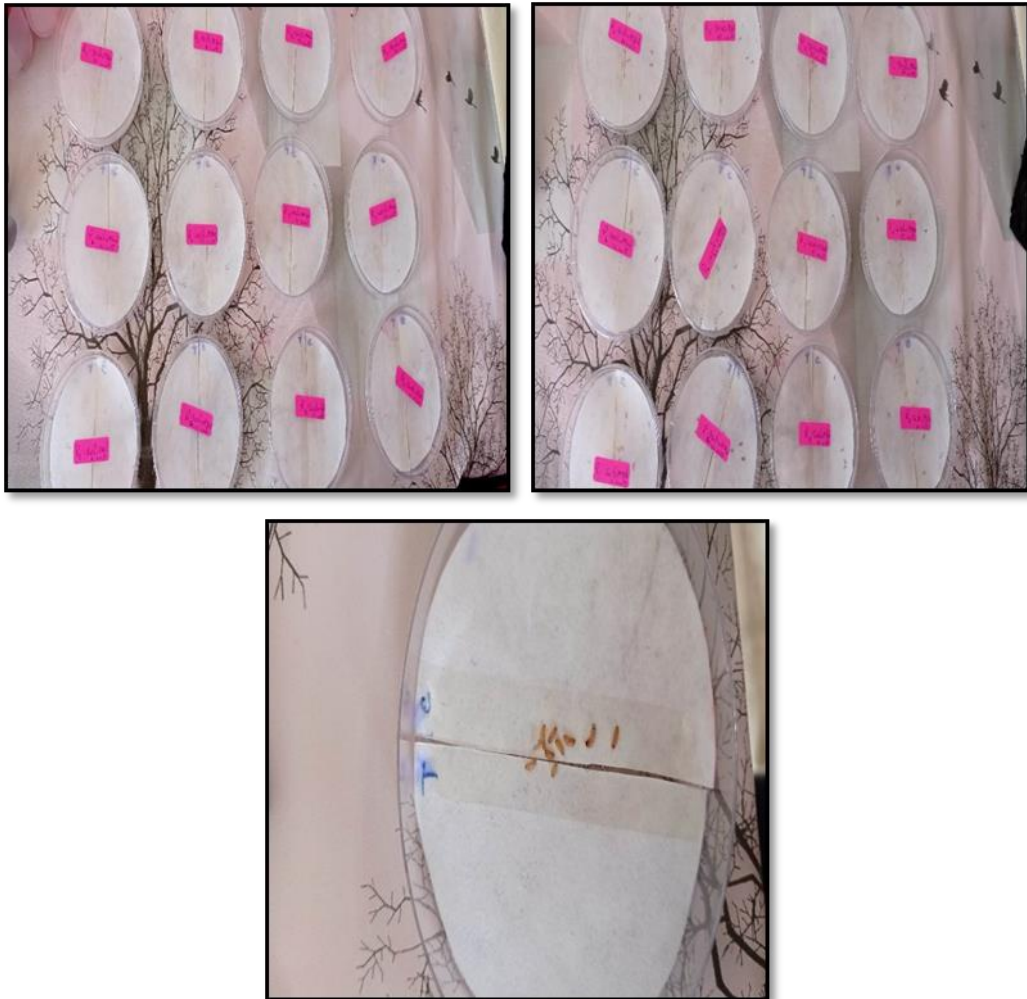


Figure 4. Test de répulsion (Photoss personnelle).
(T: Traité ; C: Non traité)

Le pourcentage moyen de répulsion calculé, est attribué à l'une des différentes classes variant de 0 à 5 (Mc Donald et al., 1970) (Tableau 2).

Tableau 2. Classement de Mc Donald et al. (1970) selon les pourcentages de répulsion.

Classes	Intervalle de répulsion	Propriétés
0	$PR \leq 0,1 \%$	Faiblement répulsif
I	$0,1\% < PR \leq 20\%$	Faiblement répulsif
II	$20\% < PR \leq 40\%$	Modérément répulsif
III	$40\% < PR \leq 60\%$	Moyennement répulsif
IV	$60\% < PR \leq 80\%$	Répulsif
V	$80\% < PR \leq 100\%$	Très répulsif

2.6. Test de l'émergence

Afin de tester l'effet du menthol sur le taux d'inhibition de l'émergence, 10 larves ont été mises dans des boîtes de Pétri avec 3 g du blé traité avec le menthol dissout dans de l'acétone en appliquant les doses suivantes : 4 et 8 μ l par fumigation. Une série témoin a été réalisée en parallèle où les larves reçoivent uniquement du solvant. L'ensemble est maintenu dans une étuve à 27°C. Le test est suivi jusqu'à l'émergence des adultes (Figure. 5).

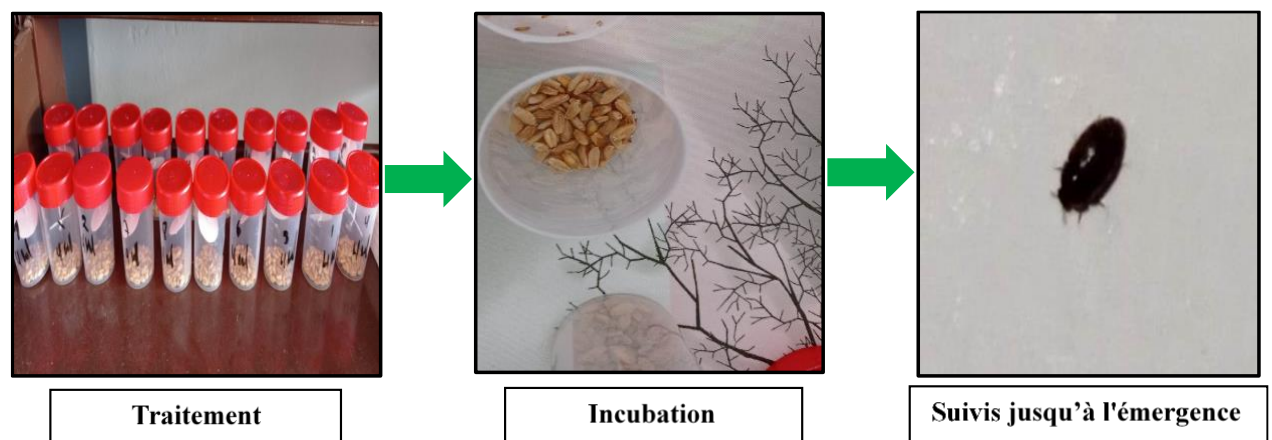


Figure 5. Test d'émergence (photos personnelles).

2.7. Extraction et dosage des constituants biochimiques

L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de *Shibko et al. (1967)* (Fig.6). Les larves témoins et traités (CL₂₅, CL₅₀) de *T. granarium* sont placées dans des tubes Eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu, servira pour le dosage

des glucides totaux selon la méthode de **Duchateau & Florkin (1959)**. Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/min pendant 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (**Goldsworthy et al., 1972**) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon **Bradford (1976)**.

2.7.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de **Bradford (1976)**, dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G250 (**Merck**). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg/ml (Tableau 3).

. **Tableau 3.** Dosage des protéines totales chez les adultes de *T. granarium*: réalisation de la gamme d'étalonnage

Solution standard d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

2.7.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de **Duchateau & Florkin (1959)**. Cette méthode consiste à additionner 100 µl de surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80°C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau 4).

Tableau 4. Dosage des glucides totaux chez les adultes de *T. granarium*: réalisation de la gamme d'étalonnage

Solution mère du glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

2.7.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été dosés selon la méthode de **Goldsworthy *et al.* (1972)**, en utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Ce dosage est fait sur des prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré. Les tubes sont agités et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100°C. Après refroidissement, on prend 200 µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol, 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther/chloroforme (1V/1V) (Tableau 5).

Tableau 5. Dosage des lipides totaux chez les adultes de *T. granarium*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Solution mère des lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V) (ml)	100	80	60	40	20	0

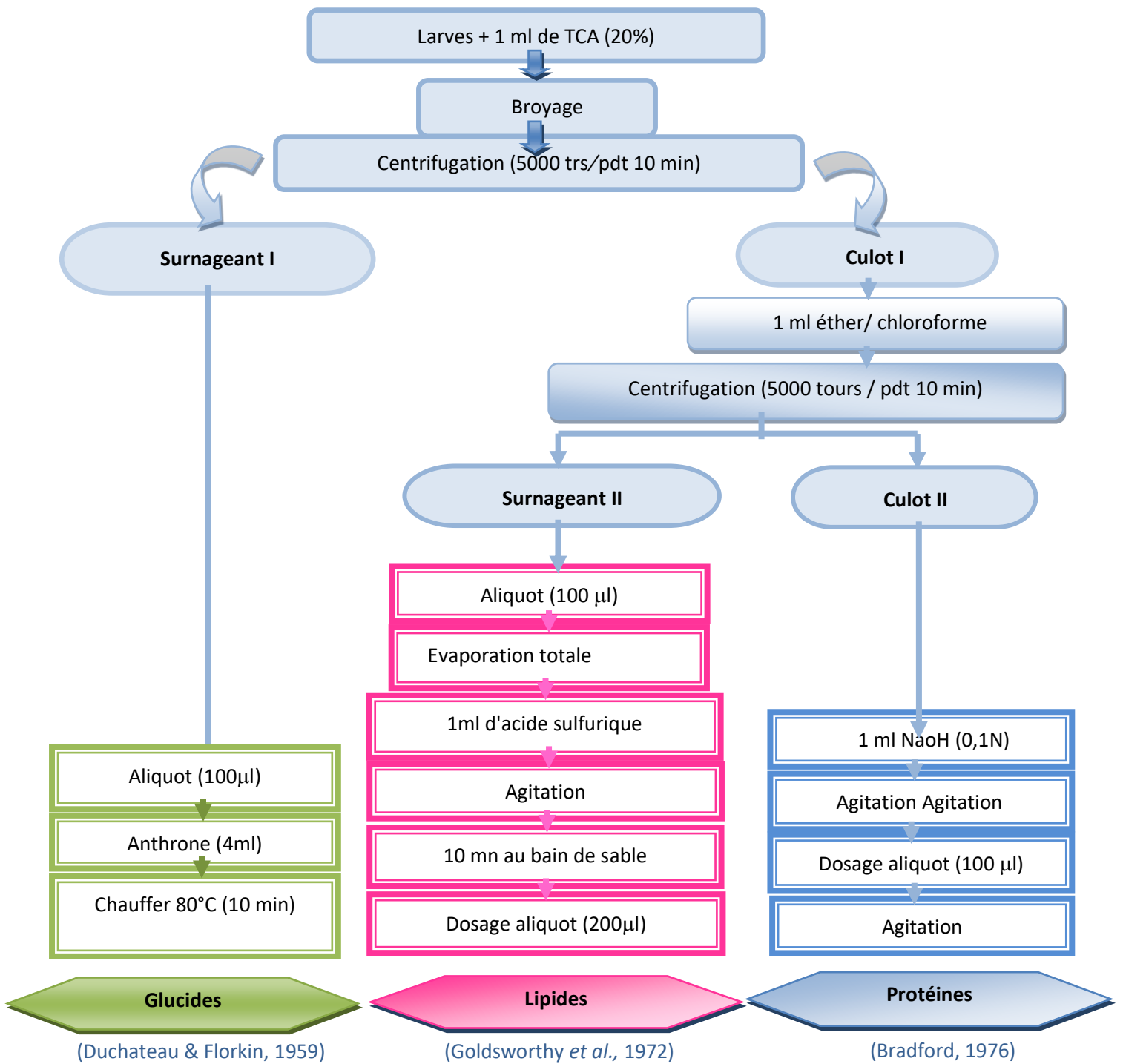


Figure 6. Extraction des protéines, glucides, et lipides totaux selon Shibko *et al.* (1967).

- Préparation des extraits enzymatiques

Les larves témoins et traitées (CL₂₅ et CL₅₀) de *T. granarium* ont fait l'objet d'un dosage de quatre enzymes digestives : α -amylase, chitinase, protéase et lipase. Dix individus sont homogénéisés dans 1 ml de tampon universel, l'homogénat ainsi obtenu est centrifugé à 13000 trs/min pendant 15 min et le surnageant récupéré est conservé jusqu'au dosage où il servira comme source d'enzyme. 4 répétitions ont été effectuées pour chaque série d'expérience. Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminée suivant la méthode de [Bradford \(1976\)](#), pour pouvoir calculer l'activité spécifique des enzymes.

2.8.1. Dosage de l' α -amylase

Le dosage de l' α -amylase est réalisé selon [Bernfeld \(1955\)](#) qui utilise l'amidon (1%) comme standard et le DNS comme réactif. La méthode du DNS (acide 3,5 dinitrosalicylique) dite méthode de sucre réducteur est une méthode colorimétrique basée sur la réaction du DNS avec les groupes réducteurs libérés après hydrolyse de l'amidon sous l'action de l' α -amylase.

Le protocole de dosage est réalisé comme suit : 20 μ l d'extrait enzymatique sont ajoutés à 100 μ l de tampon universel et 40 μ l d'amidon. Après 30 minutes d'incubation à 35°C, La réaction est arrêtée en ajoutant 100 μ L de DNS et en chauffant pendant 10 minutes dans le bain Mari (100 °C). Après refroidissement à température ambiante, 100 μ l d'eau distillé sont ajoutés.

L'absorbance a été mesurée à 540 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (20 μ l d'eau distillée pour remplacer la source d'enzyme). L'activité enzymatique est calculée grâce à la courbe d'étalonnage du maltose (0-1 μ M/ml) générée à partir de la solution mère de maltose (180 mg/ml). L'activité spécifique de l' α -amylase est exprimée en μ M/min/mg de protéines.

2.8.2. Dosage de la chitinase

Le dosage de l'activité chitinase est réalisé selon le protocole de [Miller \(1959\)](#) basé sur l'hydrolyse enzymatique de la chitine (polymère de chitobiose) en N-acetyl-D glucosamine (monomère de sucre réducteur). Une fraction aliquote de 250 μ l d'extrait enzymatique est additionnée à 250 μ l de chitine colloïdale (1%); le mélange est ensuite incubé pendant 30 min à 50°C sous agitation avant d'être transféré au bain marie (100°C pendant 5 min). Après refroidissement à

température ambiante et centrifugation à 5000 trs/min pendant 5 minutes, 150 µl de surnageant sont additionnés à 300 µl de tampon universel et 200 µl de DNS. Le mélange est incubé 10 minutes au bain marie à 100°C puis refroidi à 4°C. L'absorbance est mesurée à 540 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (250 µl d'eau distillée remplaçant l'enzyme). L'activité enzymatique a été estimée grâce à une gamme étalon de N-acétylglucosamine (0 - 0,144 mg/ml) préparée à partir d'une solution mère de N-acétylglucosamine (0,5 mg/ml). L'activité spécifique est exprimée en mM/min/mg de protéines.

2.8.3. Dosage de la lipase

Le dosage de la lipase est réalisé selon la méthode de [Tsujita et al. \(1989\)](#) qui utilise le pNPB (p-nitrophenyl butyrate) comme substrat. Une fraction aliquote de 10 µl d'extrait enzymatique est additionnée à 18 µl de pNPB (50 mM) et 172 µl de tampon universel ; le mélange est incubé pendant 30 minutes à 37 °C. L'absorbance est mesurée à 405 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (18 µl d'eau distillée remplaçant le pNPB). Une gamme d'étalonnage de p-Nitrophenol (0 - 0,025 uM/ml) est réalisée grâce à une solution mère de p-Nitrophenol (0,05 M/ml). L'activité spécifique de lipase est exprimée en µM/min/mg de protéine.

2.8.4. Dosage de la protéase

L'activité protéasique est déterminée selon la méthode décrite par [Garcia-Carreno & Haard \(1993\)](#) utilisant la caséine comme substrat. Le mélange réactionnel est : 100 µl d'extrait enzymatique, 100 µl de tampon universel et 200 µl de solution de caséine (1%) dans le tampon Phosphate salin (PBS) à pH 7,0. Le mélange est incubé à 37°C pendant 1 h. La réaction est ensuite stoppée par addition de 800 µl d'acide trichloroacétique (TCA) à 5%, permettant la précipitation des protéines. Le mélange est centrifugé à 8000 tours/min pendant 15 min. La lecture des absorbances est effectuée à 280 nm. L'activité enzymatique est déterminée grâce à une gamme étalon de tyrosine (0 - 2 mM) préparée à partir d'une solution mère de tyrosine (10 mM). L'activité spécifique des protéases est exprimée en mM/min/mg de protéine.

2.9. Dosage des biomarqueurs

Les larves témoins et traités de *T. granarium* sont placés dans des tubes Eppendorf contenant 1 ml de tampon phosphate et broyés. Après une

centrifugation à 5000 tours/min pendant 10 min, le surnageant obtenu est utilisé pour le dosage des biomarqueurs (TGO, TGP, PAL, et Triglycérides).

2.9.1. Glutamate pyruvate transaminases (TGP)

Le dosage a été effectué selon la fiche technique BIOLABO. C'est une méthode optimisée par *Henry et al. (1960)* et *Bergmeyer et al. (1978)*, Glutamate pyruvate transaminases (TGP) ou Alanine aminotransférase (ALT) catalyse le transfert réversible de groupement aminé de l'alanine à l'2-Oxoglutarate formant le glutamate et pyruvate. Le dosage est réalisé par l'addition de 100µl de surnageant à 1ml de réactif de travail [R2, dissout dans le tampon ; R1] (Fig.7). Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde 340 nm pendant 3 minutes



Figure 7. Kit de TGP (Photo personnelle).

2.9.2. Transaminase glutamate oxaloacétate (TGO)

Le dosage est réalisé selon la fiche technique BIOLABO. C'est une méthode optimisée par *Henry et al. (1960)*, et elle est conforme aux recommandations de l'*IFCC (1986)*. Transaminase glutamate oxaloacétate (TGO) ou l'aspartate aminotransférase (AST) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au 2- Oxoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H⁺ (*Tietz, 1999*). Le dosage est réalisé par l'addition de 100µl de surnageant à 1ml de réactif de travail [R2 dissout dans le tampon ; R1] (Fig.8). Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde 340 nm pendant 3 minutes.



Figure 8. Kit de TGO (Photo personnelle).

2.9.3. Dosage de la Phosphatase alcaline (PAL)

En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitrophényl phosphate en p-nitrophénol et phosphate. Le dosage est réalisé selon la fiche technique BIOLABO (Fig. 9). C'est une méthode optimisée par **Henry *et al.* (1960)**, et elle est conforme aux recommandations de **l'IFCC (1986)**.



Figure 9. Kit de PAL (Photo personnelle).

2.10. Dosage des triglycérides

Pour déterminer la teneur en triglycérides, un kit de diagnostic a été utilisé (Fig.10). La solution de réactif contenait du tampon phosphate (50 mM, pH 7,2), du 4-chlorophénol (4 mM), de l'adénosine triphosphate (2 mM), du Mg^{2+} (15 mM), de la glycérokinase (0,4 kU/l), de la peroxydase (2 kU/l), lipoprotéine lipase (2 kU/l), 4-aminoantipyrine (0,5 mM) et glycérol-3-phosphate-oxydase (0,5 kU/l). Les échantillons (10 μ l) ont été incubés avec 10 μ l d'eau distillée et

70 µl de réactif pendant 20 min à 25 °C. L'équation suivante a été utilisée pour calculer la quantité de triglycérides :

$$\text{mg/dl} = \frac{\text{Do du blanc}}{\text{Do du standard}} \times 0,01126.$$



Figure 10. Kit de triglycérides (Photo personnelle).

2.11. Dosage de l'estérase

Le dosage est réalisé selon la méthode de [Han *et al.* \(1995\)](#). L' α -naphtyl acétate (α -NA) a été utilisé comme substrat. Ainsi, 15 µl de α -NA (10 mM), 50 µl de fast blue RR salt (1 mM) et 20 µl de solution enzymatique ont été déposés dans chaque cuve. Après 5 min, la densité optique (DO) a été lue à 450 nm.

2.12. Détermination des indices nutritionnels

Les indices nutritionnels ont été calculés selon la méthode de [Huang *et al.* \(2000\)](#). La molécule bioactive, le Menthol a été testé sur les indices nutritionnels chez les larves de *T. granarium*. Pour cela, les larves ont été affamées pendant 5h avant le test, afin d'exsuder le contenu intestinal, puis mises dans des flacons avec 3 g de blé traité avec les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀) de menthol. L'essai est conduit avec 4 répétitions comportant chacune 10 individus traités (CL₂₅ et CL₅₀) et avec des séries témoins. Le poids des larves a été déterminé avant et après le test. Les indices nutritionnels ont été calculés selon la méthode de [Huang *et al.* \(2000\)](#).

$$\text{RGR} = (A-B) / (B \times \text{jours})$$

RGR : Taux de croissance relative.

A : Poids des insectes vivants (mg) / Nombre des insectes vivants.

B : Poids initial des insectes (mg) / Nombre initial des insectes.

$$\text{RCR} = D / (B \times \text{Day})$$

RCR : Taux de consommation relative.

D : Biomasse ingérée (mg) / le nombre des insecte vivants.

$$\text{ECI}\% = (\text{RGR} / \text{RCR}) \times 100$$

ECI : efficacité de la conversion des aliments ingérés.

2.13. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel GRAPH PAD PRISM 7. Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-moyen (SEM). Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). L'analyse de la variance à un critère de classification suivie du test HSD de Tukey, ont été utilisés.



Résultats



3.1. Essai insecticide du Menthol

Après un test de screening, différentes concentrations de Menthol (19,2; 38,4; 76,8; 153,6; 200µl/l d'air) ont été appliquées sur les larves de *T. granarium* par fumigation. Des séries témoins sont réalisées en parallèles et aucune mortalité n'a été observée. Les mortalités corrigées varient de 10% à 24h jusqu'à 20% à 72h pour la dose la plus faible (19,2µl/ml) et de 98,75% à 24h jusqu'à 100% à 72h pour la plus forte dose (200µl/ml). Ces mortalités augmentent de façon significative en fonction des doses appliquées et du temps après traitement chez les larves de *T. granarium* à 24h ($F_{4, 35}=292,2$; $p<0,0001$), à 48h ($F_{4, 35}=560,5$; $p<0,0001$) et à 72h ($F_{4, 35}= 264,4$; $p<0,0001$). Les résultats montrent que le Menthol appliqué par fumigation exerce une activité insecticide avec une relation dose-réponse à l'égard des larves de *T. granarium*. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 3 groupes de moyennes à 24h et à 48h et 4 groupes de moyennes à 72h.

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 11) a permis l'estimation des concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (Tableau 6).

Tableau 6. Toxicité du Menthol appliqué par fumigation (µl/l d'air) sur les larves de *T. granarium* à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ($m \pm$ SEM, n= 8 répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.

24h	10,00 ± 5,00 a	25,00 ± 5,00 b	42,5 ± 3,75 c	67,5 ± 5,65 d	98,75 ± 2,18 e
48h	16,25 ± 4,68 a	31,25 ± 2,18 b	51,25 ± 2,18 c	75,00 ± 5,00 d	100 ± 0,00 e
72h	20,00 ± 5,00 a	38,75 ± 2,18 b	56,25 ± 4,68 c	80,00 ± 5,00 d	100 ± 0,00 e

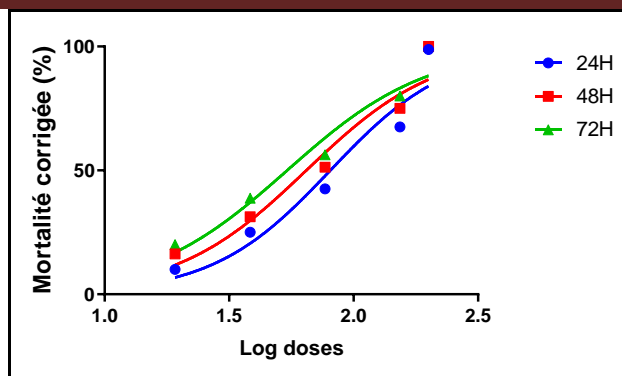


Figure 11. Effet du Menthol appliqué par fumigation sur les larves de *T. granarium* à différentes périodes : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Tableau 7. Efficacité du Menthol appliqué sur les larves de *T. granarium* : analyse des probits.

24h	0,92	1,82	44,17 13,98 - 90,50	80,66 45,19 - 131,80	268,90 116,60 - 1747
48h	0,94	1,52	33,26 11,42 - 63,81	64,61 37,67 - 102	243,70 110,30 - 1120
72h	0,94	1,42	26,48 9,615 - 48,33	54,13 32,46 - 83,13	226,20 105,40 - 856,80

3.2. Effet répulsif du Menthol

Les résultats du pouvoir répulsif de Menthol à l'égard des larves de *Trogoderma granarium* sont présentés dans le Tableau 7. Le pourcentage de répulsion marque une augmentation en fonction des concentrations appliquées. Le fort taux de répulsion (90%) a été observé à 30min avec la plus forte concentration (80µl/ml). Ces pourcentages augmentent à 30min d'exposition puis diminuent par la suite à 1h, 2h et 3h après traitement. De plus, on constate que le Menthol est classé en catégorie 5 de répulsion.

Tableau 8. Pourcentage (PR) et classe (CR) de répulsion du Menthol à l'égard des larves de *T. granarium* à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SEM$, $n= 4$ répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.

20µl/ml	15min	10	I
	30min	30	II
	1h	25	II
	2h	20	II
	3h	15	I
40µl/ml	15min	30	II
	30min	70	IV
	1h	55	III
	2h	40	III
	3h	35	II
80µl/ml	15min	65	IV
	30min	90	V
	1h	85	V
	2h	75	IV
	3h	70	IV

3.3. Effet du Menthol sur le taux d'inhibition de l'émergence

Le menthol a été appliqué par fumigation sur les larves de *T. granarium* et l'effet a été examiné jusqu'à l'émergence. Il ressort de nos résultats une augmentation significative du taux d'inhibition de l'émergence en fonction des concentrations appliquées ($t=9,896$; $df=28$; $p<0,0001$) (Fig. 12).

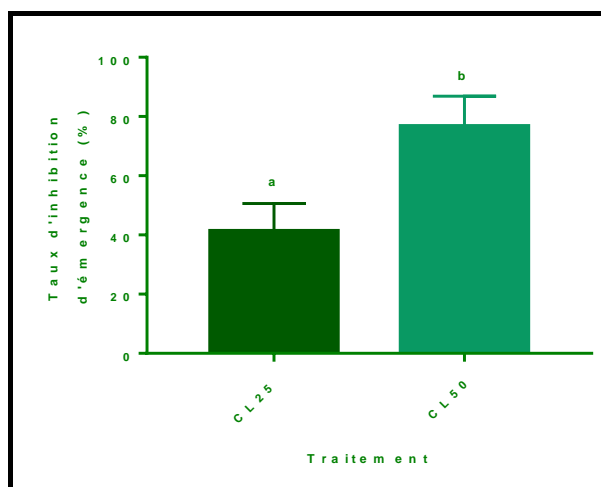


Figure 12. Effet du menthol (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux d'inhibition de l'émergence (%) chez *T. granarium* (m ± SEM, n=15 répétitions, comportant chacune 10 individus).

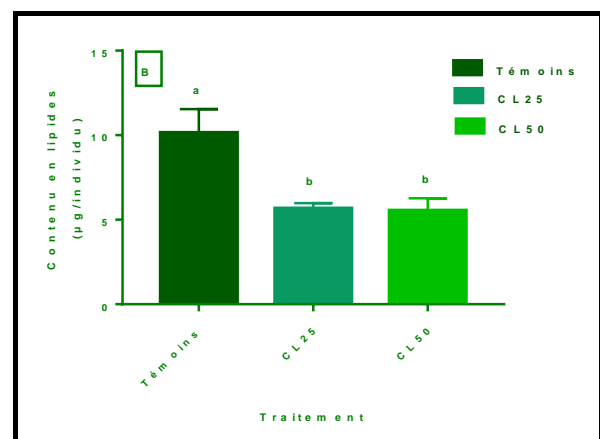
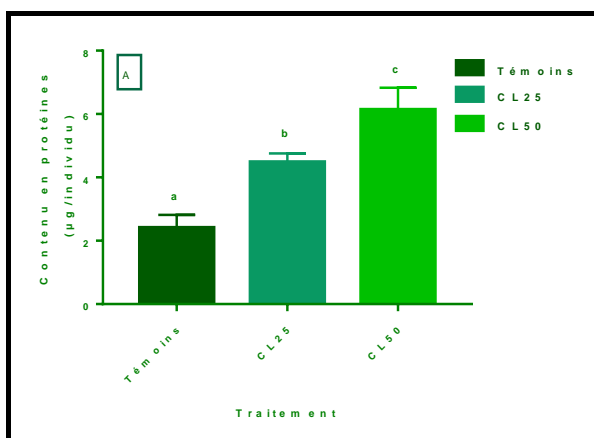
3.4. Effet du Menthol sur la composition biochimique

Le menthol (CL₂₅ et CL₅₀) a été appliqué par fumigation sur les larves de *T. granarium* et ses effets ont été évalués sur la composition biochimique (glucides, lipides et protéines) de cette espèce à 72h après traitement.

D'après les résultats représentés dans la Figure13A, on note une augmentation significative du contenu en protéines totales après traitement avec les deux concentrations létales du Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) ($F_{2,9}= 58,18 : P <0,0001$). Un effet dose a été constaté (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P=0,0026$). Le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes, chacun étant constitué d'une série.

Le traitement par le menthol a induit une diminution significative du contenu en lipides ($F_{2,9}=32,24 : P <0,0001$), sans effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P > 0,05$). Le test HSD de Tukey met en évidence 2 groupes de moyennes, le premier groupe formé des témoins et le deuxième groupe constitué des traités (Fig.13B).

En ce qui concerne le contenu en glucides, l'application du traitement a induit une diminution significative ($F_{2,9}= 55,97 : P <0,0001$) de ce composé, sans effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P > 0,05$). Le test HSD de Tukey met en évidence 2 groupes de moyennes, le premier groupe formé des témoins et le deuxième groupe constitué des traités (Fig.13C).



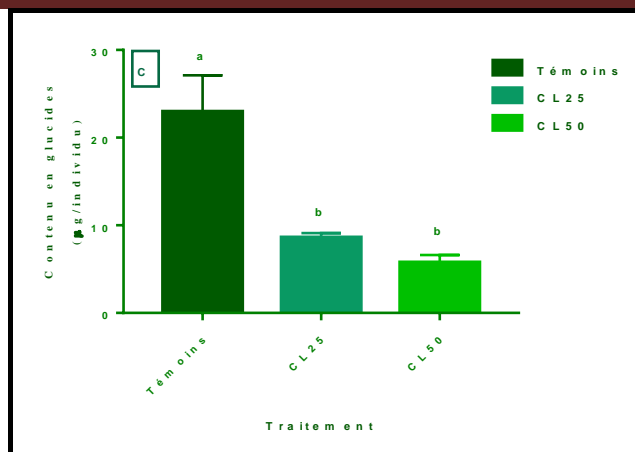


Figure 13. Effet du Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) appliqué par fumigation sur le contenu en protéines (A), lipides (B) et glucides (C) chez les larves de *Trogoderma granarium* à 72 h après traitement (m ± SEM, n=4 répétitions, comportant chacune 10 individus).

3.5. Effet du Menthol sur les enzymes digestives

Les larves de *T. granarium* ont été traitées par fumigation avec deux concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀) à 72h. Les effets du menthol ont été évalués sur l'activité spécifique de quatre enzymes digestives: α -amylase, chitinase, lipase et protéase.

D'après les résultats représentés dans la Figure.14A, on note une diminution significative de l'activité de l' α -amylase chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ ($F_{2,9}= 70, 99 : P < 0,0001$) avec un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P= 0,0188$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes, chacun étant constitué d'une série.

Les résultats de l'activité de la protéase montrent une diminution significative chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ ($F_{2,9}= 597,1 : P < 0,0001$) par rapport aux témoins, avec un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P < 0,0001$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes, chacun étant constitué d'une série (Fig.14C).

Par ailleurs, les résultats du dosage de la lipase révèlent une diminution significative chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ ($F_{2,9}= 81,18 : p < 0,0001$) par rapport aux témoins, avec un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P= 0,0373$). Le

classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes, chacun étant constitué d'une série (Fig.14B).

Enfin, l'application du Menthol provoque une diminution significative de l'activité de la chitinase chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ ($F_{2,9}= 47,03$: $p<0,0001$). Un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P=0,0082$) a été constaté. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes, chacun étant constitué d'une série (Fig. 14D).

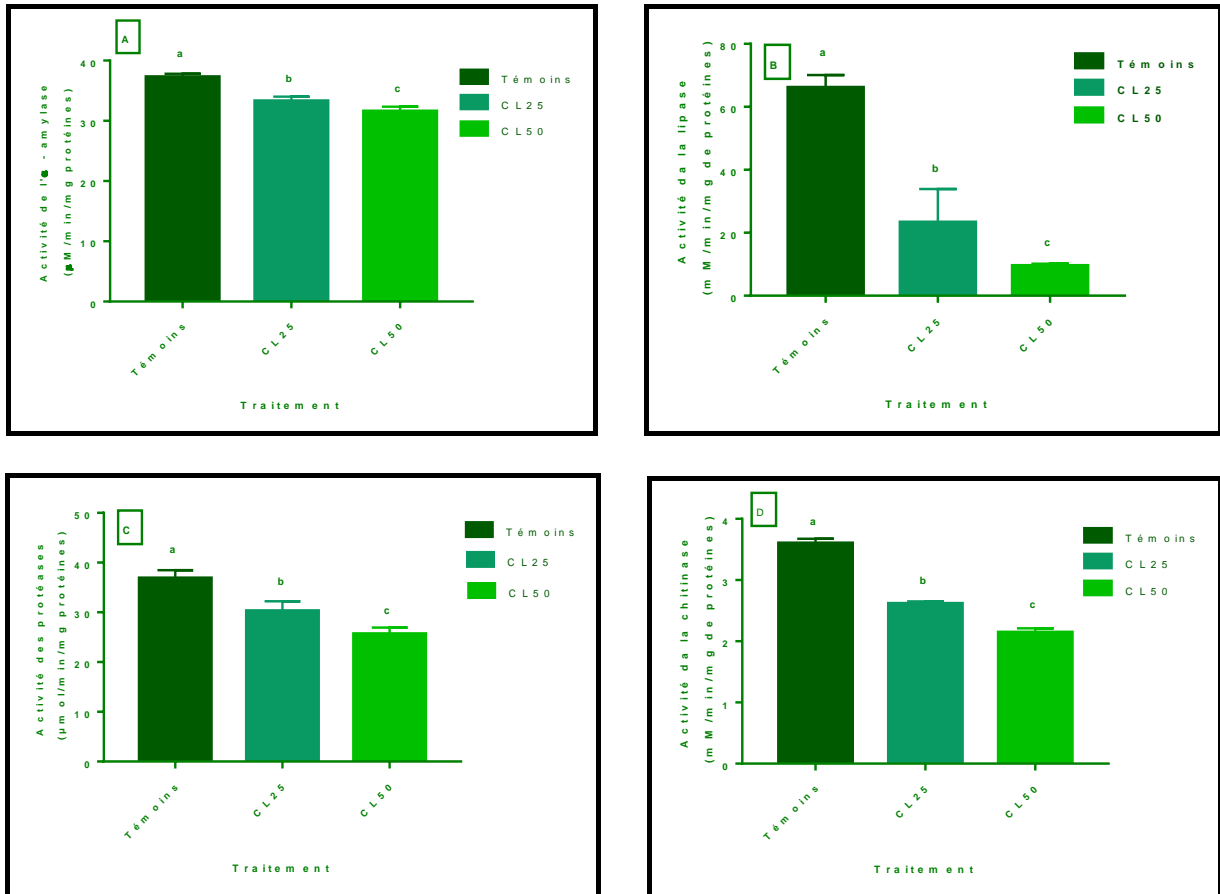


Figure 14. Effet du menthol (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité de l'α- amylase (A), lipase (B), protéase (C) et chitinase (D) chez les larves de *T. granarium* à 72 h après traitement ($m \pm SEM$, $n=4$ répétitions, comportant chacune 10 individus).

3.6. Effet du menthol sur les biomarqueurs physiologiques

Les larves de *T. granarium* ont été traitées par fumigation avec deux concentrations létales du Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) et leurs effets ont été évalués

sur l'activité spécifique de 4 biomarqueurs physiologiques : PAL, TGO, TGP et triglycérides.

Une augmentation significative de l'activité de la PAL a été constatée après application du Menthol sur les larves de *T. granarium* ($F_{2,9}= 45,92 : p<0,0001$), avec un effet dose (CL_{25} vs $CL_{50} : P= 0,0012$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence de 3 groupes, chacun étant constitué d'une série (Fig. 15A).

L'application du Menthol a induit également une augmentation significative de l'activité de la TGP chez les traités à la CL_{25} et la CL_{50} ($F_{2,9}= 11,09 : P=0,0037$), sans effet dose (CL_{25} vs $CL_{50} : P> 0,05$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence de 2 groupes (Fig. 15B).

Les résultats mentionnés dans la Figure 15C montrent une augmentation significative de l'activité de la TGO chez les traités à la CL_{25} et la CL_{50} ($F_{2,9}=10,94 : P=0,0039$), avec un effet dose (CL_{25} vs $CL_{50} : P=0,0096$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes, un groupe formé des témoins et des traités à la CL_{25} et un deuxième groupe constitué des traités à la CL_{50} .

L'application du Menthol a induit une diminution significative du taux de triglycérides chez les traités à la CL_{25} et la CL_{50} ($F_{2,9}=202,3 : P<0,0001$). Un effet dose a été signalé (CL_{25} vs $CL_{50} : P= 0,0001$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence de 3 groupes, chacun étant constitué d'une série. (Fig. 15D).

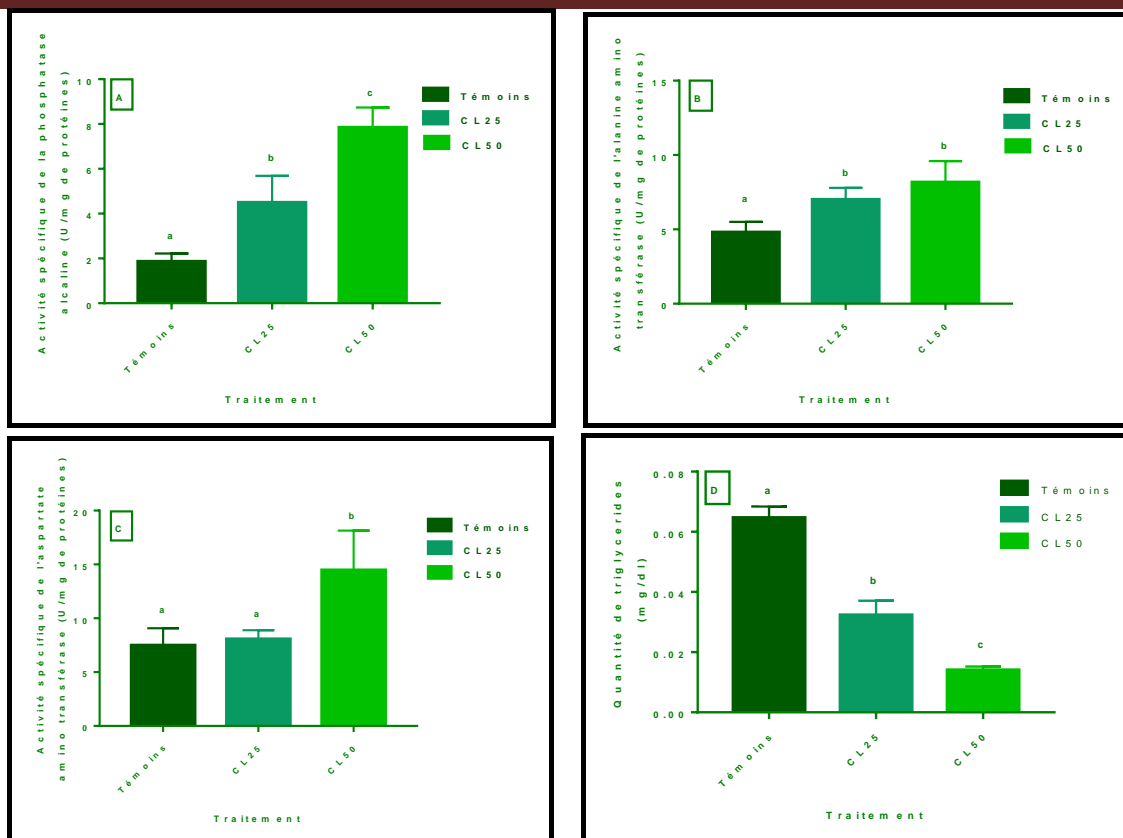


Figure 15. Effet du Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) appliqué par fumigation sur les biomarqueurs physiologiques: PAL (A), TGP (B), TGO (C) et Triglycérides (D) chez les larves de *T. granarium* à 72 h après traitement ($m \pm SEM$, n=4 répétitions, comportant chacune 10 individus).

3.7. Effet du menthol sur l'activité de l' α -estérase

Les larves de *T. granarium* ont été traitées par fumigation avec deux concentrations létales du Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) et leurs effets ont été évalués sur l'activité d'un biomarqueur de détoxification, l' α -estérase.

L'activité de l' α -estérase marque une augmentation significative chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ ($F_{2,9} = 29,43$: $P = 0,0001$) avec un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P = 0,0141$). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence de 3 groupes, chacun étant constitué d'une série (Fig. 16).

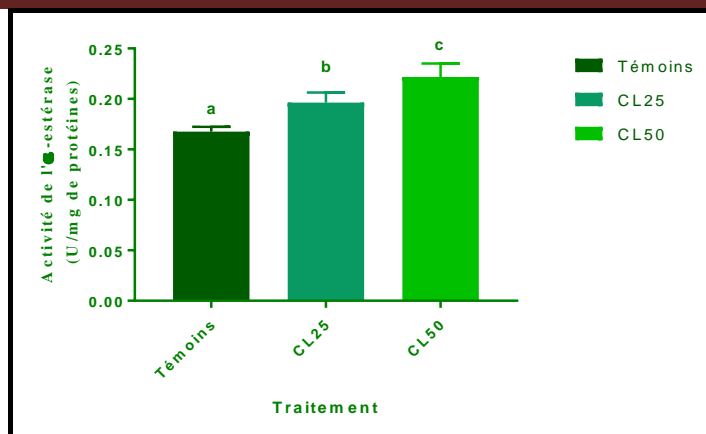


Figure 16. Effet du Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) appliqué par fumigation sur l'activité de l' α -estérase chez les larves de *T. granarium* à 72 h après traitement ($m \pm SEM$, $n=4$ répétitions, comportant chacune 10 individus).

3.8. Effet du menthol sur les indices nutritionnels

Les résultats des indices nutritionnels chez les témoins et les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ du Menthol sont mentionnés dans les Figures 17 A, B et C. Les résultats montrent que le traitement influence tous les indices nutritionnels chez les larves de *T. granarium*.

Le taux de la croissance relative (RGR) était inversement proportionnel aux concentrations appliquées du Menthol. Cet indice diminue significativement après traitement avec les deux doses appliquées ($F_{2,9}=33,91$; $P<0,0001$) avec un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P=0,045$).

Concernant le taux de consommation relative (RCR), les résultats révèlent un effet significatif du traitement sur cet indice chez les traités à la CL₂₅ et la CL₅₀ du Menthol ($F_{2,9} = 90,57$; $P<0,0001$) avec un effet dose (CL₂₅ vs CL₅₀ : $P=0,0016$).

Les résultats de l'efficacité de la conversion des aliments ingérés (ECI) révèlent une diminution significative suite au traitement avec la plus forte concentration du Menthol (Témoins vs CL₅₀ : $P=0,028$). Aucun effet n'a été enregistré avec la CL₂₅ (Témoins vs CL₂₅ : $P>0,05$).

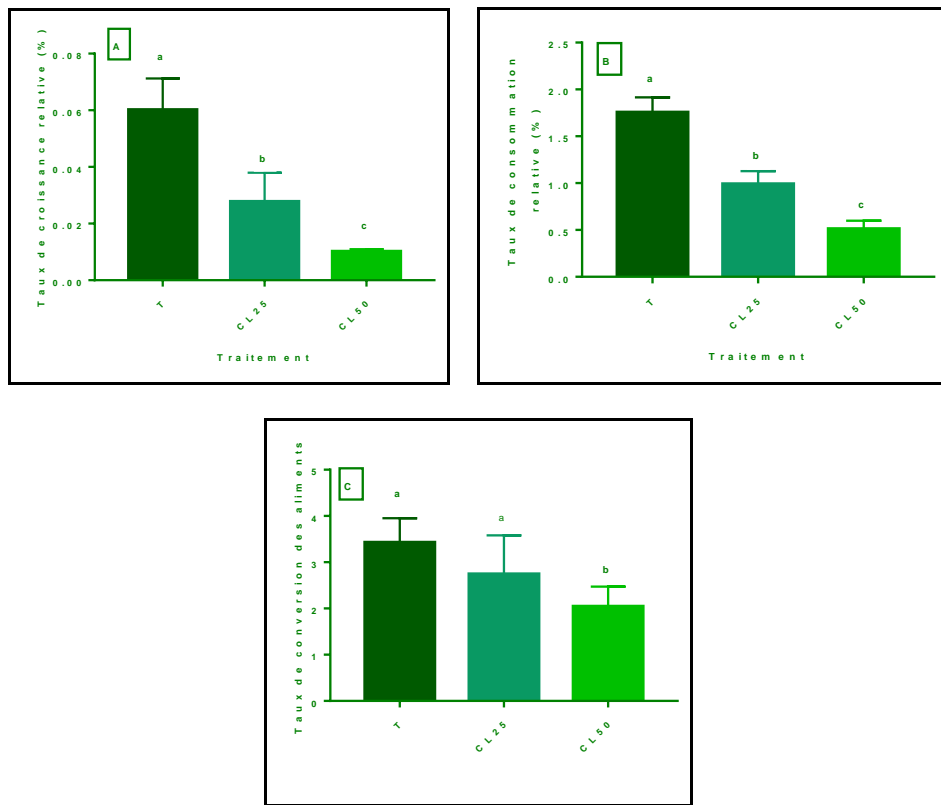


Figure 17. Effet du Menthol sur les indices nutritionnels chez les larves de *T. granarium* ($m \pm SEM$; $n=4$ répétitions comportant chacune 10 individus).



Discussion



4.1. Toxicité

La toxicologie est l'étude des effets nocifs d'une substance chimique naturelle ou synthétique sur les organismes vivants. Les tests toxicologiques sont adoptés pour tester la sensibilité des organismes vivants aux traitements appliqués en campagne de lutte (OMS, 1963), ils sont importants pour évaluer les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀).

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke *et al.*, 1999). Ces dernières peuvent affecter la croissance, le développement et le comportement des insectes et peuvent agir comme anti-appétant (Hough-Goldstein, 1990; Hummelbrunner & Isman, 2001), fumigants, répulsifs (Mason, 1990; Watanabe *et al.*, 1993), ou régulateurs de croissance (Abedi *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2015; Bezzar *et al.*, 2016; Lai *et al.*, 2014). Leur toxicité peut être directe ou indirecte sur les organes cibles (organes sensoriels, système nerveux, système endocrines, appareil digestif, appareil reproductif, etc.) (Benayad, 2013). Le taux de pénétration à travers la cuticule, le transport dans les tissus de l'organisme, le métabolisme (Besard *et al.*, 2011) mais aussi la régulation des récepteurs membranaires ou encore les canaux ioniques ciblés par les insecticides peuvent jouer un rôle crucial pour expliquer les différences de sensibilité des insectes aux pesticides (Lavialle-Defaix *et al.*, 2010).

De nombreuses études ont rapporté l'activité insecticide des HEs et de leurs composants contre les ravageurs des grains entreposés (Perez *et al.*, 2010 ; Brari & Thakur, 2015). La plupart des travaux ont confirmé que l'activité des huiles est due à leurs composés (Néo-Isomenthol, Menthone, Carvone, Limonène, β -Ocimène et Dihydrotagétone), qui agissent sur le système nerveux de l'insecte en perturbant les fonctions du système GABAergique (Bloomquist *et al.*, 2008 ; Tong & Coats, 2012) et aminergique (Kostyukovsky *et al.*, 2002 ; Enan, 2005)

et en inhibant l'acétylcholinestérase (Lopes *et al.*, 2010 ; Abdelgaleil *et al.*, 2015).

Notre étude vise à tester par fumigation, la toxicité d'une molécule bioactive, le menthol à l'égard des larves de *Trogoderma granarium*.

Les résultats obtenus ont montré une activité insecticide de ce traitement avec une relation dose-réponse. Plusieurs constituants des HEs ont prouvé leur potentiel insecticide, le Menthol contre *Rhyzopertha dominica* (Tine & Trad, 2022), l'Eucalyptol contre *Tribolium confusum* (Debab & Mesloub, 2022), Limonène contre *T. granarium* (Abdesmad & Moumou, 2022), β -Pinène contre *T. confusum* (Djebaili & Boudjil, 2022), Linalool contre *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022) et Azadirachtine contre *R. dominica* (Halaimia & chechoui, 2017). Six principaux monoterpénoïdes des HEs de plantes aromatiques cultivées en Turquie, à savoir le Carvacrol, le 1,8-Cinéole, le Menthol, le γ -Terpinène, le Terpinène-4-ol et le Thymol ont été testés pour leur activité fumigante contre les adultes de *T. confusum* et les larves d'*Ephestia kuehniella*. Les résultats ont montré une variation de l'activité fumigante de ces molécules avec comme constituant plus actif est le carvacrol (Erler, 2005).

4.2. Pouvoir répulsif

La répulsion est un mécanisme de défense exercé par les plantes contre les insectes (Jayakumar *et al.*, 2017). Ce phénomène physiologique a été utilisé pour lutter contre les dégâts causés par ces insectes ravageurs. Cette activité est liée aux principes actifs et aux constituants chimiques de l'huile (Damalas & Eleftherohorinos, 2011).

Nos résultats ont montré le pouvoir très répulsif (90%) du menthol contre les larves de *T. granarium*. Les travaux d'Ojmelukwe & Adler (1999) ont montré l'effet répulsif de plusieurs constituants avec l'efficacité de Zimtalaldéhyde (90,53%) par rapport à l'Eugénol (80%), le Thymol (70,39%), l'Hydroxy-anisol

(50,37%), le Terpinéol (42,97%) et le Menthol (40,74%) contre *T. confusum*. Par ailleurs, les études réalisées au niveau de notre Laboratoire ont mis en évidence l'activité répulsive de plusieurs molécules bioactives, telles que le Limonène (Abdesmad & Moumou, 2022), Limonène, Linalool et Carvone (Moutaz, 2023) contre *T. granarium*, le Linalool contre *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022), le Menthol contre *R. dominica* (Tine & Trad, 2022), l'Eucalyptol contre *Tribolium confusum* (Debab & Mesloub, 2022) et β -Pinène contre *T. confusum* (Djebaili & Boudjil, 2022).

La toxicité et le potentiel répulsif des composés phytochimiques à l'égard des ravageurs dépendent de plusieurs facteurs tels que la composition chimique des huiles et la sensibilité de l'insecte (Casida & Quistad, 1995).

4.3. Effet du traitement sur l'émergence

D'après les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, nous avons enregistré une inhibition de l'émergence de *T. granarium* traité par le menthol et qui augmente en fonction des concentrations appliquées. Des résultats similaires ont été observés chez les larves de *T. granarium* traitées avec l'HE extraite d'*Eucalyptus globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021) et trois molécules bioactives, le Carvone, le Limonène et le Linalool (Djabri, 2023). Yahiatene (2013) a constaté que plus la dose du traitement (acide oléique et l'huile d'olive) est importante, plus la viabilité des larves de *C. maculatus* diminue. Une réduction de l'émergence de plus de 50% a été observée chez *R. dominica* après traitement avec des huiles essentielles extraites de *Ferula assa foetida*, *Pelargonium hortorum* et *Juglans regia* (Bahrami et al., 2016). Les travaux d'Obeng-Ofori et al. (1997) ont montré que les monoterpènes tels que le 1,8-Cinéole, l'Eugénol et le Camphre, ont la capacité de provoquer la mortalité et l'inhibition de l'émergence des coléoptères des produits stockés. D'autres études ont montré que les insecticides botaniques tels que l'HE de *Citrullus colocynthis* et la poudre de dix plantes inhibent l'émergence des adultes de *C. maculatus* (Prabu Seenivasan

et al., 2004 ; Govindan & Jeyarajan, 2008). Par contre, Namane & Mezani (2014) n'ont observé aucun effet de l'huile d'olive issue de quatre régions différentes de la wilaya de Tizi Ouzou sur l'émergence des adultes de *Callosobruchus maculatus* après traitement des graines de niébé.

4.4. Effet du Menthol sur la composition biochimique

Les extraits de plantes peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées par une augmentation ou une diminution de différents métabolites (protéines, carbohydrates et lipides) chez les insectes (Ayvaz *et al.*, 2009 ; Cetin & Yanikoglu, 2006 ; El-akhal *et al.*, 2015 ; Negahban *et al.*, 2007). Il est essentiel d'étudier les modifications de la composition biochimique suite au traitement par les insecticides botaniques, pour évaluer et déterminer leur pouvoir toxique (Sak, 2006).

Les protéines sont des constituants importants de la cellule et l'être vivant, car les différentes enzymes qui réalisent les cascades d'activités métaboliques sont principalement des protéines (Preet & Sneha, 2011). Elles sont nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement des activités vitales des insectes (Yazdani *et al.*, 2014 ; Mojarab Mahboubkar *et al.*, 2015). Les protéines entrent dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intégrer dans la cellule comme élément structural en même temps que les glucides et les lipides (Jacob *et al.*, 1961).

Les résultats obtenus au cours de notre travail, montrent que l'application du menthol (CL₂₅ et CL₅₀) sur les larves de *T. granarium*, induit une perturbation du contenu en protéines en l'augmentant. Des résultats similaires ont été signalés chez *Ephestia kuehniella* traitée par *Mentha piperita* (Zoghلامي, 2015), chez *Trogoderma granarium* traité par *E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021), chez *R. dominica* traitée par l'azadirachtine (Tine *et al.*, 2017), et le Linalool (Bouchagra & Farhi, 2022), et chez *T. confusum* traité par le Linalool (Lahmar

& Benhadda, 2022). Par contre, l'application du Menthol sur les adultes de *R. dominica* (Tine & Trad, 2022), et le Limonène sur les larves de *T. granarium* (Abdesmad & Moumou, 2022) induit une diminution du contenu en protéines. D'autre part, le traitement par l'huile d'Eucalyptus et l'Eucalyptol n'a aucun effet sur les protéines totales chez les adultes de *T. confusum* (Debab & Mesloub, 2022).

L'augmentation du taux de protéines peut être expliquée par une perturbation des fonctions physiologiques et biologiques qui a conduit à la synthèse des différents régulateurs de nature protéique intervenant dans les mécanismes de défense de l'organisme tels que les enzymes, les hormones ... etc.

Les glucides représentent également l'élément énergétique de l'organisme jouant un rôle essentiel dans la physiologie des insectes (Cassier *et al.*, 1997). Ils forment un groupe de composés très importants, certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique) (Nation, 2008).

Nos résultats montrent une réduction significative du contenu en glucides chez les larves de *T. granarium* traitées par le menthol. Des résultats similaires ont été signalés chez *S. granarius* traité par l'huile de citrus et par l'azadirachtine Guettal (2021), chez *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022) et *T. confusum* (Lahmar & Benhadda, 2022) traités par le Linalool, chez *T. granarium* traité par l'huile de *Citrus limonum* et le limonène (Abdesmad & Moumou, 2022). Par contre, une augmentation de ce composé a été observée chez *T. confusum* traité par l'huile d'*Eucalyptus globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez *Ephestia kuehniella* traité par l'huile de *Mentha piperita* (Zoghlami, 2015) et chez *R. dominica* traitée par l'azadirachtine (Halaimia & Chachoui, 2017).

La déplétion du glucose peut être due aux conditions de stress imposées à ces insectes qui ont besoin plus d'énergie pour couvrir les dépenses énergétiques via

une induction par des **neuropeptides** (Yazdani *et al.*, 2014 ; Mojarab-Mahboubkar *et al.*, 2015). Elle peut également être due à une accélération de la glycogénolyse au niveau du corps adipeux, au transport du glycogène du corps gras à l'hémolymphe en réponse à l'épuisement énergétique lorsque les individus sont exposés à des toxines (Zibae, 2011).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenackers *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leur synthèse et stockage (Van Hensden et Law, 1989), vers les organes utilisateurs (Chino *et al.*, 1981). Les réserves lipidiques semblent être la résultante d'un équilibre entre la prise de nourriture et les dépenses énergétiques indispensables pour certains processus tel que la croissance (Beenackers *et al.*, 1985).

Notre étude montre que le traitement des larves de *T. granarium* par le menthol induit une diminution significative du contenu en lipides. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez *S. granarius* traité avec l'huile de *C. limonum* et l'Azadirachtine (Guettal *et al.*, 2020), chez *R. dominica* traité par l'huile d'*E. globulus* (Soltani & Abbes, 2021), chez *Glyphodes pyloalis* traité par *Lavandula angustifolia* (Yazdani *et al.*, 2013), chez *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022) et *T. confusum* (Lahmar & Benhadda, 2022) traités par le Linalool et chez *T. granarium* traité par l'huile de *Citrus limonum* et le limonène (Abdesmad & Moumou, 2022). Par contre, une augmentation de ce composé a été observée chez *T. confusum* traité par l'huile d'*Eucalyptus globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), et chez *R. dominica* traitée par l'azadirachtine (Halaimia & Chachoui, 2017).

L'épuisement de ce composant biochimique est dû au stress induit suite à l'exposition à un insecticide (Rambabu & Rao, 1994) qui se traduit par une altération de leurs synthèse (Klowden, 2007), à un dysfonctionnement hormonal qui contrôle le métabolisme lipidique (Steel, 1981), à son utilisation (Sak *et al.*,

2006), à la formation des lipoprotéines, à la réparation des dommages cellulaires et à l'augmentation de la lipolyse pour fournir de l'énergie (Steele, 1985).

4.5. Effet du Menthol sur le métabolisme intermédiaire

Les biomarqueurs ont été largement utilisés en écotoxicologie comme indicateurs précoces d'exposition à des substances toxiques (Alessio *et al.*, 2016). Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire (Badiou, 2007). Diverses enzymes sont couramment utilisées comme biomarqueurs chez de nombreuses espèces (Barata *et al.*, 2007 ; Heylen *et al.*, 2011) tels que PAL, ASAT, et ALAT (Pratt & Kaplan, 2000).

Les transaminases (ASAT et ALAT) sont des enzymes mitochondriales impliquées dans la transamination et trouvées dans l'hémolymphe et les corps gras des insectes (Nation, 2008). Ils ne sont libérés dans l'hémolymphe des insectes que lorsque les cellules sont endommagées ou détruites (Abo El Makarem *et al.*, 2015).

Nos résultats montrent que le menthol entraîne une augmentation significative de l'activité des biomarqueurs enzymatiques (TGO, TGP et PAL). Ces résultats pourraient suggérer que l'application de menthol a amélioré l'activité des transaminases en raison du stress toxique. Des résultats similaires ont été constatés chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez *R. dominica* traité par le menthol (Tine & Trad, 2022), chez les larves de *T. granarium* traitées par trois molécules bioactives, le Carvone, le Limonène et le Linalool (Djabri, 2023) et chez *R. dominica* traité par le Camphre, β -Pinène et Eucalyptol (Boukoucha & Boughrara, 2023). Par contre, l'étude de Hasheminia *et al.* (2011) a montré que *Artemisia annua* et *Achillea mille folium* ont induit une réduction de l'activité de l'AST chez *Pieris rapae*.

Une activité accrue des transaminases est nécessaire pour les insectes pour métaboliser les acides aminés afin d'obtenir de l'énergie en cas de stress. En fait, l'effet variable des extraits de plantes sur l'activité de la TGO et de la TGP pourrait être dû à leurs effets sur la synthèse ou les niveaux fonctionnels de ces enzymes directement ou indirectement en modifiant la cytomorphologie des cellules (Nath, 2000).

La phosphatase alcaline (PAL) est une enzyme hydrolase responsable de l'élimination des groupes phosphates de nombreux types de molécules, y compris les nucléotides, les protéines et les alcaloïdes dans des conditions acides, sous le nom de déphosphorylation (Zibae et al., 2011).

Notre étude a révélé une augmentation de la PAL chez les larves de *T. granarium* traitées par le menthol. Les mêmes observations ont été constatées chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez *R. dominica* traité par le menthol (Tine & Trad, 2022), chez les larves de *T. granarium* traitées par trois molécules bioactives, le Carvone, le Limonène et le Linalool (Djabri, 2023) et chez *R. dominica* traité par le Camphre, β -Pinène et Eucalyptol (Boukoucha & Boughrara, 2023). Ces résultats sont en désaccord avec ceux trouvés chez les larves de *G. pyloalis* traitées avec l'HE de thym, et les composés Thymol et Carvacrol (Goharrostami et al., 2022) et chez *E. kuehniella* traitée avec l'huile de *Teucrium polium* (Lamiaceae) et α -Pinène (Shahriari et al., 2019).

L'absence de fonction digestive et la diminution du métabolisme causées par une diminution de la libération de groupes phosphate pour la production d'énergie peuvent être indiquées par une baisse de l'activité de ce groupe enzymatique (Selin-Rani et al., 2016 ; Senthil-Nathan, 2006).

Les insectes emmagasinent les réserves énergétiques sous forme de glycogène et de triglycérides dans l'adipocyte, cellule principale du corps gras. Le métabolisme des lipides est essentiel à la croissance et à la reproduction et

fournit l'énergie nécessaire à l'insecte (Arrese & Soulages, 2010). Les triglycérides sont les principales sources de stockage dans les corps gras dont leurs quantités changent en fonction des stades de développement et de l'état nutritionnel de l'insecte (Mardani-Talaei *et al.*, 2015). Dans notre étude, les faibles quantités de Triglycérides ont été signalées chez les larves traitées de *T. granarium* avec le Menthol ce qui correspond à l'activité la plus faible des protéases et des lipases digestives. Des résultats similaires ont été notés chez *T. granarium* traité par le Carvone, le Limonène et le Linalool (Djabri, 2023), chez *R. dominica* traité par la combinaison des molécules bioactives, Camphre, β -Pinène et Eucalyptol (Boukoucha & Boughrara, 2023), chez *E. kuehniella* traité par l'HE de *Teucrium polium* (Lamiaceae) et α -Pinène (Shahriari *et al.*, 2017) et chez *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) traitée par l'huile de *Citrullus colocynthis* (Cucurbitaceae) (Ramzi *et al.*, 2014).

L'épuisement de ces macromolécules après traitement aux biopesticides pourrait se produire en raison d'une altération de leur synthèse (Klowden, 2007), d'un dysfonctionnement hormonal pour contrôler leur métabolisme (Steel, 1980) et de leur utilisation pour répondre à la demande énergétique des insectes (Sak *et al.*, 2006).

4.6. Effet du Menthol sur le biomarqueur de détoxification

Le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses anti-oxydantes (Angelos *et al.*, 2005). Les extraits de plantes pénètrent dans les tissus et les organes des insectes cibles et affectent l'activité de diverses enzymes détoxifiantes (Mathews *et al.*, 2010). Trois types d'enzymes détoxifiantes réagissent contre les insecticides botaniques y compris les estérases générales (EST), la glutathion S-transférase (GST) et les phosphatases (Zibae, 2011). L'estérase (EST) est une enzyme détoxifiante importante *in vivo* qui hydrolyse la liaison estérique dans les produits chimiques de synthèse. De plus, l'estérase

est l'une des enzymes présentant la réaction la plus forte à la stimulation environnementale (Hemingway & Karunatne 1998). Les réponses de l'EST aux insecticides botaniques sont liées aux concentrations des extraits appliquées et à la durée d'exposition. Au stade précoce, les extraits de plantes stimulent l'expression des EST pour augmenter la capacité de détoxification. Au stade avancé, en raison de l'effet toxique et du temps, l'activité de l'EST est supprimée (Zibae & Bandani, 2010b).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que l'application du menthol (CL₂₅ et CL₅₀) sur les larves de *T. granarium*, par fumigation, induit une perturbation de l'activité des estérases en l'augmentant. Des résultats similaires ont été constatés chez *T. granarium* traité par le Linalool (Djabri, 2023) et chez *R. dominica* traité par le Camphre, β -Pinène et Eucalyptol (Boukoucha & Boughrara, 2023).

4.7. Effet du Menthol sur les enzymes digestives

La digestion est la décomposition des macromolécules ingérées en petits molécules absorbables et utilisables par les cellules, un processus qui se déroule par le biais d'un ensemble d'enzymes, pour cela, toute perturbation de ces derniers va empêcher l'insecte à accomplir cette fonction biologique (Zibae & Bandani, 2010). La digestion est également influencée par les conditions physico-chimiques de l'intestin principalement, le pH (Douglas, 2013).

Dans ce cadre, notre étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet d'une molécule bioactive, le Menthol sur quatre enzymes indispensables pour la digestion : protéase, lipase, chitinase et α -amylase.

Les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines, en scindant la liaison peptidique qui lie deux acides aminés dans une chaîne peptidique (Pascual-Ruis *et al.*, 2009). Elles peuvent être altérées par les insecticides botaniques qui interfèrent la production de certains types de

protéases et les empêchent de digérer les protéines ingérées (Johnson *et al.*, 1990 ; Senthil-Nathan *et al.*, 2006). Nos résultats montrent que le menthol a réduit l'activité des protéases. Des résultats similaires ont été signalés chez *T. confusum* traité par l'HE d'*E. globulus* et son constituant, l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez les larves de *T. granarium* traitées par l'HE d'*E. globulus* (Brahmi et Yousfi, 2021) et les molécules bioactives, Carvone, Limonène et Linalool (Djabri, 2023) et chez *R. dominica* traité par *Schinus molle* (Soltani & Abes, 2022) et Menthol (Tine & Trad, 2023).

Les lipases sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons externes des molécules de graisses. Bien qu'il existe quelques études sur les lipases digestives des insectes, leur activité est affectée de manière significative par l'utilisation des insecticides botaniques (Senthil Nathan *et al.*, 2006). Nos résultats ont révélé une diminution de l'activité de la lipase chez *T. granarium* suite au traitement avec le Menthol. Les mêmes observations ont été notées chez les larves de *T. granarium* traitées avec l'huile d'*E. globulus* (Brahmi et Yousfi, 2021), et les molécules bioactives, Carvone, Limonène et Linalool (Djabri, 2023), chez *R. dominica* traité par *Schinus molle* (Soltani & Abes, 2022) et Menthol (Tine & Trad, 2023), chez *T. confusum* traité par l'HE d'*E. globulus* et son constituant, l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022) et chez *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera : Pyralidae) traité avec l'azadirachtine (Nathan *et al.*, 2006).

Les chitinases sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons glycosidiques des molécules de chitine lors des processus de croissance des insectes, plus précisément, elles hydrolysent les liaisons β -(1-4) des résidus de N-acétyl- β -D-glucosamine (Merzendorfer & Zimoch, 2003) et interviennent dans la formation et la dégradation de la membrane périthrophique qui protège l'épithélium intestinal (Shen & Jacobs-Lorena, 1997). Nos résultats ont révélé une diminution de l'activité de la chitinase après exposition au Menthol. Des résultats similaires ont été rapportés chez les larves de *T. granarium* traitées par

l'HE d'*E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021), chez *R. dominica* traité par *Schinus molle* (Soltani & Abes, 2022), chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), et chez *R. dominica* traitée par le Menthol (CL₂₅ et CL₅₀) (Tine & Trad, 2022).

α -amylase est l'enzyme clé qui catalyse l'hydrolyse de la chaîne α -1-4 glycane de l'amidon et du glycogène qui sont les formes stockées de carbohydrates (Terra & Ferriera, 2005). Certains extraits de plantes et des molécules d'origine végétale ont inhibé l'activité de l' α -amylase *in vitro* (Yazdani *et al.*, 2012). Nos résultats montrent que le menthol a réduit l'activité α -amylase chez les larves de *T. granarium*.

Les travaux de Soltani & Abes (2022) menées sur *R. dominica* traité par *Schinus molle*, Menthol (Tine & Trad 2022), et *Lavandula angustifolia* (Sayada *et al.*, 2021) notent les mêmes observations. En outre, des études ont montré une réduction de l'activité α -amylase chez *P. americana* (Paranagma *et al.*, 2001), chez *P. interpunctella* (Rharrabe *et al.*, 2008), chez *Glyphodes pyloalis* (Khosravi & Sendi, 2013) et chez *Tribolium castaneum* (Sami, 2014) traités à l'azadirachtine, chez *T. granarium* traitée par l'HE d'*E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021) et chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022).

Toute perturbation de l'activité des enzymes digestives réduit l'accès aux nutriments indispensables au fonctionnement de l'organisme. De plus, cette réduction de la capacité d'utilisation des nutriments peut se répercuter sur la conversion de l'énergie nécessaire à la production d'enzymes d'induction impliquées dans la détoxification des huiles essentielles et de leurs composants (Senthil-Nathan *et al.*, 2005).

4.8. Effet du Menthol sur les indices nutritionnels

Les huiles essentielles et leurs constituants ont une activité anti-appétante (Hough-Goldstein, 1990 ; Hummel & Isman, 2001) et inhibitrices du développement et de la croissance des insectes (Karr & Coats, 1992). Ces pesticides botaniques inhibent l'appétit ou perturbent l'alimentation des insectes en rendant le matériel traité peu attrayant ou désagréable (Rajashekar *et al.*, 2012 ; Talukder, 2006).

Dans notre étude, le taux de la croissance relative (RGR), le taux de consommation relative (RCR), l'efficacité de la conversion des aliments ingérés (ECI) sont les paramètres sélectionnés pour évaluer le pouvoir anti-appétant du Menthol à l'égard de *T. granarium*. Les résultats obtenus montrent que la diminution de l'ECI est un indicateur de la capacité de l'insecte à utiliser la nourriture ingérée pour la croissance et le développement, ce qui signifie que plus la nourriture est métabolisée pour produire l'énergie, moins elle est concertée en substance corporelle (croissance) (Koul *et al.*, 2004).

Le taux de consommation relatif est utilisé pour mesurer l'exploitation des aliments par les insectes, sa diminution reflète l'incapacité des larves de *T. granarium* à exploiter les aliments ingérés. La diminution du RGR et du RCR peut confirmer les effets toxiques des composés allélochimiques de la plante sur la membrane péri-trophique et les dommages induits au niveau de l'intestin moyen (Marie *et al.*, 2009). Des résultats similaires ont été rapportés chez les larves de *T. granarium* traitées par l'HE d'*E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021), chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez *R. dominica* traité par *Lavandula angustifolia* (Sayada *et al.*, 2021)



Conclusion et perspectives



V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez une espèce de Coléoptère ravageur des denrées stockées, *Trogoderma granarium*, l'effet d'une molécule bioactive, le Menthol. Son effet a été testé sur plusieurs aspects : toxicité, émergence, composition biochimique, biomarqueurs enzymatiques et enzymes digestives.

Les essais toxicologiques réalisés par fumigation ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₂₅ et CL₅₀). Le Menthol appliqué a présenté un effet insecticide avec une relation dose-réponse. De plus, le test de répulsion réalisé a permis de mettre en évidence le pouvoir répulsif du Menthol à l'égard de cette espèce.

La composition biochimique a montré que cette molécule a induit une perturbation des réserves nutritionnelles (glucides, lipides et protéines) chez *Trogoderma granarium*.

Le Menthol a affecté les biomarqueurs enzymatiques du métabolisme intermédiaire via une augmentation de la phosphatase alcaline, la Glutamate Pyruvate Transaminase (TGP) et la Glutamate-Oxaloacétate-Transaminase (TGO) et une diminution des triglycérides.

L'activité spécifique des enzymes digestives chez *Trogoderma granarium* est également perturbées sous l'effet du Menthol. Les résultats révèlent une diminution significative de l'activité de l' α -amylase, la chitinase, la lipase et la protéase.

Enfin, l'évaluation d'un biomarqueur de détoxification, indique que le menthol induit une augmentation de l'activité des estérases chez les traités comparativement aux témoins.

En guise des perspectives, nous recommandons de:

- ❖ Evaluer l'effet de cette molécule sur le potentiel reproducteur de *Trogoderma granarium*;
- ❖ Déterminer l'effet du Menthol sur le développement de cette espèce ;
- ❖ Déterminer la persistance de cette molécule et ses effets sur la qualité des grains ;
- ❖ En dernier lieu, nous suggérons des essais pilotes dans les entrepôts de stockage afin de mieux évaluer l'efficacité de ce traitement in situ.



Résumé



VI. RESUME

Cette présente étude a pour but d'évaluer l'activité insecticide d'une molécule bioactive, le Menthol à l'égard d'une espèce de ravageur, *Trogoderma granarium*. Les effets ont été examinés sur la mortalité, les biomarqueurs (PAL, TGO, TGP, triglycéride et estérase), les réserves nutritionnelles, les enzymes digestives.

Les essais toxicologiques réalisés par fumigation ont révélé l'activité insecticide de cette molécule avec une relation dose-réponse. Le test de répulsion a permis de mettre en évidence le pouvoir répulsif de ce traitement à l'égard de *T. granarium*.

Par ailleurs, les indices nutritionnels mettent en valeur l'efficacité de cette molécule sur les larves de *T. granarium*. Les résultats révèlent une diminution du taux de la croissance et la consommation relative et du taux de la conversion des aliments ingérés. L'étude biochimique montre que le traitement provoque une diminution du contenu en protéines et des réserves énergétiques. De plus, il perturbe l'activité des biomarqueurs du métabolisme intermédiaire (PAL, TGO, TGP, triglycérides) chez les larves de *T. granarium*.

Finalement, le Menthol perturbe l'activité des enzymes digestives chez les larves traitées comparativement aux témoins. En effet, le traitement réduit l'activité spécifique de l' α -amylase, de la chitinase, de la protéase et de la lipase.

Mots clés : Menthol, *Trogoderma granarium*, Toxicité, Répulsion, Réserves énergétiques, Enzymes digestives, Biomarqueurs.

ABSTRACT

This present study aims to evaluate the insecticidal activity of a bioactive molecule, Menthol, against a pest species, *Trogoderma granarium*. Effects were examined on mortality, biomarkers (PAL, TGO, TGP, triglycerides and esterase), nutritional reserves and digestive enzymes.

Toxicological tests carried out by fumigation revealed the insecticidal activity of this molecule with a dose-response relationship. The repulsion test made it possible to highlight the repulsive potential of this treatment against *T. granarium*.

Moreover, the nutritional indices highlight the effectiveness of this bioactive molecule on *T. granarium* larvae. The results show a decrease in the rate of growth, relative consumption and the rate of conversion of ingested food. The biochemical study shows that the treatment causes a decrease in protein content and energy reserves. In addition, it disrupts the activity of biomarkers (PAL, TGO, TGP, triglyceride) in *Trogoderma granarium* larvae.

Finally, the menthol also disrupts the activity of digestive enzymes in treated larvae compared to controls. Indeed, the treatment reduces the specific activity of α -amylase, chitinase, protease and lipase.

Keywords: Menthol, *Trogoderma granarium*, Toxicity, Repulsion, Energy reserves, digestive enzymes, biomarkers.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نشاط المبيد الحشري للجزء النشط بيولوجيًا، المنثول، ضد نوع من الآفات *Trogoderma granarium*. تم فحص التأثيرات على معدل الوفيات، المؤشرات الحيوية، PAL (TGO، TGP، triglycéide، estérase) الاحتياطيات الغذائية، الإنزيمات الهاضمة..

كشفت اختبارات السمية التي أجريت عن طريق التبخير عن نشاط مبيد حشري لهذا الجزء مع علاقة الجرعة بالاستجابة. أظهر اختبار التنافر القوة الطاردة لهذا العلاج ضد *Trogoderma granarium*.

علاوة على ذلك، فإن المؤشرات الغذائية تسلط الضوء على فعالية هذا الجزء النشط بيولوجيًا على يرقات *T. granarium*. أظهرت النتائج انخفاضًا في مقاومة الاستساغة ومعدل النمو والاستهلاك النسبي ومعدل تحويل الطعام المبتلع. تظهر الدراسة البيوكيميائية أن العلاج يسبب انخفاض في محتوى البروتين واحتياطيات الطاقة. بالإضافة إلى ذلك، فإنه يعطل نشاط المؤشرات الحيوية، PAL، TGP، triglyceride، esterase في يرقات *Trogoderma granarium*.

أخيرًا يعطل المنثول أيضًا نشاط الإنزيمات الهضمية لدى البالغين المعالجين. في الواقع، يقلل العلاج من النشاط المحدد لـ α -amylase و chitinase و protease و lipase.

الكلمات المفتاحية: المنثول، *Trogoderma granarium*، السمية، التنافر، احتياطيات الطاقة، الإنزيمات الهضمية، المؤشرات الحيوية.



Références Bibliographiques



VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

Abbott, W.B. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18(2): 265-267.

Abdelgaleil, S.A., Mohamed, M.I., Shawir, M.S. & 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, *Sitophilus oryzae* L. *Journal of Pest Science*. 89(1) : 219-229.

Abdesmad, O. & Moumou, W. (2022). Activité insecticide et répulsive d'une molécule bioactive contre les larves d'un insecte à intérêt économique. Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 49p.

Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G., Mehrvar, A. & Kamita, S. G. (2014). Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*. 107(2): 638-645.

Ahmad, A., Viljoen, A.M. & Chenia, H.Y. (2015). The impact of plant volatiles on bacterial quorum sensing. *Letters in Applied Microbiology*. 60(1) : 8-19.

Ahmedani, M.S., Haque, M.I., Afzal, S. N., Naeem, M., Hussain, T. & Naz, S. (2011). Quantitative losses and physical damage caused to wheat kernel (*Triticum aestivum* L.) by khapra beetle infestation. *Pakistan Journal of Botany*. 43(1): 659-668.

Ainane, A., Khammour, F., Charaf, S., Elabboubi, M., Elkouali, M., Talbi, M. & Ainane, T. (2019). Chemical composition and insecticidal activity of five essential oils: *Cedrus atlantica*, *Citrus limonum*, *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum* and *Eucalyptus globulus*. *Materials Today: Proceedings*. 13: 474-485.

Alessio, I., Roberto, G., Paolo, P. & Marco, V. (2016). Natural variability of enzymatic biomarkers in fresh water invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*. 24(1) : 1-11.

Ali, A.M., Mohamed, D.S., Shaurub, E.H. & Elsayed, A.M. (2017). Antifeedant activity and some biochemical effects of garlic and lemon essential oils on *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(3) : 1476-1482.

Alzouma, L. (1995). Connaissance et contrôle des Coléoptères Bruchidae ravageurs de légumineuses alimentaires au Sahel. *IPM*. 4 : 10 - 11.

Amallal, F. (1980). Etude de la valeur insecticide de quelques produits dans la lutte contre *Tribolium castaneum* H. des denrées alimentaires stockées (Coleoptera : Tenebrionidae). Thèse d'Ingénieur d'Etat en Agronomie. INA, El Harrach.

Anjum, S.I., Yousf, M.J., Ayaz, S. & Siddiqui, B.S. (2010). Toxicological evaluation of chlorpyrifos and Neem extract (Biosal B) against 3rd instars larvae of *Drosophila melanogaster*. Journal of Animal and Plant Sciences. 20(1): 9-12.

Aryani, D.S. & Auamcharoen, W. (2016). Repellency and contact toxicity of crude extracts from three Thai plants (Zingiberaceae) against maize grain weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Biopesticides. 9(1) : 52.

Ayvaz, A., Karaborklu, S. & Sagdic, O. (2009). Fumigant toxicity of five essential oils against the eggs of *Ephesia kuehniella* Zeller and *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). Asian Journal of Chemistry. 21:596-604

-B-

Badiou, A. (2007). Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'Abeille, *Apis mellifera*. Thèse de Doctorat Université de Paul Cezanne Aix-Marseille III. 147p.

Bahrami, R., Kocheili, F. & Ziaee, M. (2016). Effects of asafoetida, geranium and walnut leaves essential oils on nutritional indices and progeny reduction on *Rhyzopertha dominica* adults (Coleoptera: Bostrychidae). Journal of Crop Protection. 5 (3): 369-375.

Barata, C., Damasio, J., López, M.A., Kuster, M., De Alda, M.L., Barceló, D. & Raldúa, D. (2007). Combined use of biomarkers and *in situ* bioassays in *Daphnia magna* to monitor environmental hazards of pesticides in the field. Environmental Toxicology and Chemistry : An International Journal. 26(2) : 370-379.

Beenackers, A.M., Van der Horst, D.J. & Van Marrewijk, W.J. (1985a). Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. Progress in Lipid Research. 24(1): 19-67.

Beenackers, A.T., Bloemen, R.E.B., De Vlieger, T.A., Van der Horst, D.J. & Van Marrewijk, W.J.A. (1985b). Insect adipokinetic hormones. Peptides. 6 : 437-444.

Benayad N. (2013). Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de Doctorat en Chimie. Université Mohamed V. Agdal. Faculté des Sciences. Rabat. 186 p.

- Bergmeyer, H.U., Horder, M. & Rey, J. (1986).** Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic enzymes. Part 3: IFCC method for alanine aminotransferase. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*. 24: 481-495.
- Bernfeld, P. (1955).** Amylases, alpha and beta. *Methods in Enzymology*. I : 149-158.
- Besard, L., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G. & Smagghe, G. (2011).** Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest Management Science*. 67(5): 541-547.
- Bezzar-Bendjazia, R., Kilani-Morakchi, S. & Aribi, N. (2016).** Growth and molting disruption effects of azadirachtin against *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(1): 363-368.
- Blackwell, A., Stuart, A.E. & Estambale, B.A. (2003).** The repellent and antifeedant activity of oil of *Myrica gale* against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicylic acid. *Proceedings of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 33: 209-214.
- Bloomquist, J.R., Boina, D.R., Chow, E., Carlier, P.R., Reina, M. & Gonzalez-Coloma, A. (2008).** Mode of action of the plant-derived silphinenes on insect and mammalian GABAA receptor/chloride channel complex. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 91(1): 17-23.
- Bouchagra, D & Farhi, F. (2022).** Effets des extraits d'une plante aromatique, la Lavande sur le comportement et la biochimie d'un ravageur des stocks. Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 50p.
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S. & Soltani, N. (2015).** Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *African Entomology*. 23(1): 224-233.
- Bourgou, S., Rahai, F., Ourghemmi, I. & Tounsi, M. (2012).** Changes of peel essential oil composition of four Tunisian Citrus during fruit maturation. *The Scientific World Journal*. 1-10.
- 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.
- Brahmi, A. & Yousfi, R. (2021).** Impact d'une huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur les larves de *Trogoderma granarium* : Toxicité, Répulsion, Biochimie et Indices nutritionnels. Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 83p

Brahmi, A. & Yousfi, R. (2021). Impact d'une huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur les larves de *Trogoderma granarium* : Toxicité, Répulsion, Biochimie et Indices nutritionnels. Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 83p.

Brari, J. & Thakur, D.R. (2015). Insecticidal efficacy of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume and its two major constituents against *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Agricultural Technology*. 11(6): 1323-36.

-C-

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 de Doctorat en Sciences de l'Environnement. Université du Québec. 72p.

Casida, J.E. & Quistad, G.B. (1995). Pyrethrum flowers: Production, chemistry, toxicology, and uses. *International Symposium on Pyrethrum Flowers: Honolulu, Hawaii (USA)*. 48: 613- 614.

Cassier, P., Laffont, R., Porchet, M.D. & Soye, D. (1997). La reproduction des invertébrés : stratégie, modalité et régulation. Edition Masson, 354p.

Cetin, H. & Yanikoglu, A. (2006). A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology*. 31(1): 118-122.

Chino, H., Katase, H., Downer, R. C. & Hard Takahashi, K. (1981). Diacylglycerol carrying lipoprotein of hemolymph of the American cockroach: purification, characterization and function. *Journal of Lipid Research*. 22 : 7-15.

Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S., Duke, J.A. & Briemann, H.L. (1999). *Natural products from plants* Second edition. CRC, London, Newyork. 551p.

-D-

Damalas, C.A. & Eleftherohorinos, I.G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 8(5):1402-19.

Debab, A. & Mesloub, A. (2022). Efficacité comparée d'une molécule bioactive et d'une huile essentielle vis-à-vis d'un ravageur des denrées stockées. Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 93p.

Djeballi, M. & Boudjil, S. (2022). Effet d'une molécule bioactive sur un insecte ravageur des stocks. Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 32p.

Djermoun, A. (2009). La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Nature & Technology. 1 : 45-53.

Douglas, A.E. (2013). The alimentary canal .In The Insects: Structure and Function, ed. RF Champan, SJ Simpson ,AE Douglas, pp .46-80 . Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press

Duchateau, G. & Florkin, M. (1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie. 67(2) : 306-314.

-E-

Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J. J., Honarmand, P. & Amini, R. M. (2013). Toxicity and physiological effects of essential oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. Annual Research & Review in Biology. 649-658.

Ebrahimifar, J., Jamshidnia, A., Sadeghi, R., & Ebadollahi, A. (2021). Repellency of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss essential oil on two major stored-product insect pests without effect on wheat germination. International Journal of Tropical Insect Science. 41(1)

El-akhal, F., Greche, H., Chahdi, F., Guemmouh, R. & El Ouali Lalami, A. (2015). Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. Journal of Materials and Environmental Science. 6: 214-219.

Enan, E. E. (2005). Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. Insect Biochemistry and Molecular Biology. 35(4): 309-321.

Erler, F. (2005). Fumigant activity of six monoterpenoids from aromatic plants in Turkey against the two stored-product pests confused flour beetle, *Tribolium confusum*, and Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. Journal of Plant Diseases and Protection. 112 (6): 602-611.

-F-

Feillet, P. (2000). Le grain de blé. Composition, utilisation. Edition Quae, Paris, 308.

Foua-Bi, K. (1992). Préambule. La post-récolte en Afrique : Actes du Séminaire International de la Post-Récolte en Afrique, Abidjan, Côte d'Ivoire 29 jan - 1er fév. Montmagny. Aupelf-Uref. 152-154.

-G-

Garcia-Carreno, F. L. & Haard, N. F. (1993). Characterization of proteinase classes in langostilla (*Pleuroncodes planipes*) and crayfish (*Pacifastacus astacus*) extracts. Journal of Food Biochemistry. 17(2): 97-113.

Goldsworthy, G. J., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones. General and Comparative Endocrinology. 18(3): 545-551.

Guettal, S., Tine, S., 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. International Journal of Tropical Insect Science. 41: 1531-41.

Guettal, S. (2021). Effets de deux biopesticides d'origine végétale sur un ravageur des denrées stockées. Thèse de Doctorat en Biologie et Physiologie Animale. Université Larbi Tébessi, Tébessa. 141p.

-H-

Halaimia, A. & Chachoui, D. (2017). Effet d'un biopesticide, azadirachtine à l'égard d'un ravageur des denrées stockées. Master Santé et Environnement, Université Larbi Tébessi Tébessa. 82 p.

Hasheminia, S. M., Sendi, J. J., Jahromi, K. T. & Moharramipour, S. (2011). The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extracts on the toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 99(3) : 244-249.

Henry, R. J., Chiamori, N., Golub, O. J. & Berkman, S. (1960). Revised spectrophotometric methods for the determination of glutamic-oxalacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactic acid dehydrogenase. American Journal of Clinical Pathology. 34(4): 381-398.

Heylen, D., Bevacqua, E., Pelachaud, C., Poggi, I., Gratch, J. & Marc Schröder. (2011). Generating listening behaviour. In Paolo Petta, Catherine Pelachaud, and Roddy Cowie, editors, Emotion-Oriented Systems: The Humane Handbook. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Hossain, S. & Khalequzzaman, M. (2018). Repellent and oviposition deterrent activity of leaf extracts of *Azadirachta indica* A. Juss., *Persicaria hydropiper* (L.) Spach. and *Vitex negundo* Linn. against the melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). Journal of Entomology and Zoology Studies. 6(2) : 2291-2295.

Références bibliographique.....

Hough-Goldstein, J. A. (1990). Antifeedant effects of common herbs on the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*. 19(2): 234-238.

Huang, Y., Lam, S. L., & Ho, S. H. (2000). Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*. 36(2) : 107-117.

Hummelbrunner, L. A. & Isman, M. B. (2001). Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(2): 715-720.

-I-

IFCC. (1986). Method for L-Alanine aminotransferase. *Journal of clinic chemistry and Clinic Biochemistry*. 24 : 481-49.

Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. 51: 45-66.

-J-

Jacob F. & Monod J., 1961. Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins. *Journal of Biology and Medicine*. 3: 318-321.

Jayakumar, M., Arivoli, S., Raveen, R. & Tennyson, S. (2017). Repellent activity and fumigant toxicity of a few plant oils against the adult rice weevil *Sitophilus oryzae* Linnaeus 1763 (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(2): 324-335.

Jayaram, C. S., Chauhan, N., Dolma, S. K. & Reddy, S. G. (2022). Chemical composition and insecticidal activities of essential oils against the Pulse Beetle. *Molecules*. 27(2): 2-16.

Johnson, K. D., Höfte, H. & Chrispeels, M. J. (1990). An intrinsic tonoplast protein of protein storage vacuoles in seeds is structurally related to a bacterial solute transporter (GlpF). *The Plant Cell*. 2(6): 525-532.

-K-

Karr, L.L. & Coats, J.R. (1992). Effects of four monoterpenoids on growth and reproduction of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*. 85: 424-429.

Références bibliographiques.....

Keely, L.L. (1985). Physiology and biochemistry of fat body, pp. 211-248. In Kerkut, G. A. & Gilbert, L. I: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Vol. 9). Oxford: Pergamon.

Khani, A. & Rahdari, T. (2012). Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Coriandrum sativum* seeds against *Tribolium confusum* and *Callosobruchus maculatus*. *International Scholarly Research Notices*. 2-5.

Khosravi, R. & Sendi, J. J. (2013). Effect of neem pesticide (Achook) on midgut enzymatic activities and selected biochemical compounds in the hemolymph of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*. 53(3).

Kibly B.A. (1963). The biochemistry of the insect Fact. *Adv. Insect Physical*. 1: 112-174.

Klowden, M.J. (2007). *Physiological systems in insects*. Amsterdam: Elsevier. Academic Press. 688 p.

Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N. & Shaaya, E. (2002). Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*. 58(11): 1101-1106.

Koul, O., Singh, G., Singh, R., Singh, J., Daniewski, W.M. & Berlozecki, S. (2004). Bioefficacy and mode of action of some limonoids of salannin group from *Azadirachta indica* A. Juss. and their role in a multicomponent system against lepidopteran larvae. *Journal of Biosciences*. 29(4) : 409-16.

-L-

Lahmar, C. & Benhadda, M. (2022). Activité biologique d'une molécule bioactive à l'égard d'un ravageur des denrées stockées. Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 39p.

Lai, D., Jin, X., Wang, H., Yuan, M. & Xu, H. (2014). Gene expression profile change and growth inhibition in *Drosophila* larvae treated with azadirachtin. *Journal of Biotechnology*. 185: 51-56.

Lavialle-Defaix, C., Moignot, B., Legros, C. & Lapied, B. (2010). How does calcium dependent intracellular regulation of voltage-dependent sodium current increase the sensitivity to the oxadiazine insecticide indoxacarb metabolite decarbomethoxylated JW062 (DCJW) in insect pacemaker neurons?. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*. 333(1): 264-272.

Lee, B.H., Choi, W.S., Lee, S.E. & Park, B.S. (2001). Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection. 20(4): 317-320.

Lohar, M.K. & Wright, D.J. (1993). Changes in the lipid content in haemolymph, fat body and oocytes of malathion treated *Tenebrio molitor* L. Adult females. Pakistan Journal of Zoology. 25: 57-57.

Lopes, K. V. G., Silva, L. B., Reis, A. P., Oliveira, M. G. A. & Guedes, R. N. C. (2010). Modified α -amylase activity among insecticide-resistant and-susceptible strains of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Journal of Insect Physiology. 56(9): 1050-1057.

Lota, M. L., de Rocca Serra, D., Tomi, F. & Casanova, J. (2000). Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. Biochemical Systematics and Ecology. 28(1): 61-78.

-M-

Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B. & Soltani, N. (2008). Effet du *Nerium oleander*, laurier-rose, (Apocynacees) sur le taux des protéines, l'activité de l'AChE et les mouvements des vers blancs Rhizotrogini, (Coleoptera Scarabaeidae). Sciences and Technologie. 27: 73-78.

Mardani-Talae, Arash Zibae, Gadir Nouri-Ganbalani, Vahid Rahimi & Pejman Tajmiri (2015). Effect of vermicompost on nutrition and intermediary metabolism of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection. 48 (8).
<https://doi.org/10.1080/03235408.2015.1091154>

Marie, S. S., Amr, E. M., & Salem, N. Y. (2009). Effect of some plant oils on biological, physiological and biochemical aspects of *Spodoptera littoralis* (Boisd.). Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 5(1) : 103-107.

Mason, J. R. (1990). Evaluation of d-pulegone as an avian repellent. The Journal of Wildlife Management. 54(1): 130-135.

Mc Donald, L.L., Guy, R.H. & Speirs, R.D. (1970). Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. USDA Marketing Research Report. 882.

Merzendorfer, H. & Zimoch, L. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. Journal of Experimental Biology. 206(24): 4393-4412.

Références bibliographique.....

Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3): 426-428.

Mojarab-Mahboubkar, M., Sendi, J.J. & Aliakbar, A. (2015). Effect of *Artemisia annua* L. essential oil on toxicity, enzyme activities, and energy reserves of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae). *Journal of Plant Protection Research*. 55(4): 371-377.

-N-

Namane, D. & Mezani, F., (2014). Composition chimique de l'huile d'olive de différentes régions de Kabylie, étude de son activité insecticide à l'égard de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Mémoire de master en Biologie, U.M.M.T, pp 20-34.

Nath, B.S. (2000). Changes in carbohydrate metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* L., exposed to organophosphorus insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 68(3) : 127-137.

Nathan, S. S., Kalaivani, K., Murugan, K., & Chung, P. G. (2005). The toxicity and physiological effect of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) the rice leaf folder. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 81(2) : 113-122.

Nation, J.L. (2008). *Insect physiology and biochemistry*, 2nd edition. CRC Press, London, UK. 560

Negahban, M., Moharramipour, S. & Sefidkon, F. (2007). Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*. 43(2): 123-128.

Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J. & Stashenko, E.E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*. 45(3): 212-214.

-O-

Obeng-Ofori, D., Reichmuth, C.H, Bekele, J. & Hassanali, A. (1997). Biological activity of 1,8 cineole, a major component of essential oil of *Ocimum Kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*. 121(1-5) : 237-243

Ojimelukwe, P. C. & Adler, C. (1999). Potential of Zimtadehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of confused Flour Beetle (*Tribolium confusum* J.D.V.) (Col: Tenebrionidae). *Journal of Pest Science*. 72: 81-86.

Références bibliographique.....

OMS. (1963). Geneve 19-25 Novembre rapport annuel du directeur général à l'Assemblée Mondiale de la Santé et aux Nations Unies.

Ozturk, S., Koksel, H. & Ng, P. K. (2009). Characterization of resistant starch samples prepared from two high-amylose maize starches through debranching and heat treatments. *Cereal Chemistry*. 86(5) : 503-510.

-P-

Paranagama, P.A., Kodikara, K.A.B.C.H., Nishantha, H.M.I. & Mubarak, A.M. (2001). Effect of azadirachtin on growth and the activity of the midgut enzymes of cockroach *Periplaneta americana*. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 29(1-2).

Pascual-Ruiz, S., Carrillo, L., Alvarez-Alfageme, F., Ruiz, M., Castanera, P. & Ortego, F. (2009). The effects of different prey regimes on the proteolytic digestion of nymphs of the spined soldier bug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bulletin of Entomological Research*. 99(5) : 487-491.

Pavela, R. (2004). Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*. 75(7-8): 745-749.

Pérez, S.G., Ramos-López, M.A., Zavala-Sánchez, M.A. & Cárdenas-Ortega, N.C. (2010). Activity of essential oils as a biorational alternative to control coleopteran insects in stored grains. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(25): 2827-2835.

Pratt, D.S. & Kaplan, M.M. (2000). Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *New England Journal of Medicine*. 342: 66-71.

Preet, S. & Sneha, A. (2011). Biochemical evidence of efficacy of potash alum for the control of dengue vector *Aedes aegypti* (Linnaeus). *Parasitology Research*. 108(6) : 1533-1539.

-R-

Rajashekar, Y., Bakthavatsalam, N. & Shivanandappa, T. (2012). Botanicals as grain protectants. *Psyche*. 1- 13.

Rambabu, J.P. & Rao, M.B. (1994). Effect of an organochlorine and three organophosphate pesticides on glucose, glycogen, lipid, and protein contents in tissues of the freshwater snail *Bellamya dissimilis* (Müller). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 53(1): 142-148.

Regnault-Roger C. (1997). The potential of botanical essential oils for insect pest control. *International Journal of Pest Management*. 2:1-10.

Rharrabe, K., Amri, H., Bouayad, N. & Sayah, F. (2008). Effects of azadirachtin on postembryonic development, energy reserves and α -amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research. 44(3) : 290-294.

-S-

Sak, O., Uçkan, F. & Ergin, E. (2006). Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Belgian Journal of Zoology. 136 (1): 53-58.

Sami, A.J. (2014). *Azadirachta indica* derived compounds as inhibitors of digestive α -amylase in insect pests : potential biopesticides in insect pest management. European Journal of Experimental Biology. 4(1) : 259-264

Sancho, E., Ferrando, M.D., Fernandez, C. & Andreu, E. (1998). Liver energy metabolism of *Anguilla Anguilla* after exposure to fenitrothion. Ecotoxicology and Environmental Safety. 41(2) : 168-175.

Scudeler, E.L. & dos Santos, D.C. (2013). Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera : Chrysopidae). Micron. 44: 125-132.

Senthil-Nathan, S., Chunga, P.G. & Muruganb, K. (2006). Combined effect of biopesticides on the digestive enzymatic profiles of *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) (the rice leaffolder) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). Ecotoxicology and Environmental Safety. 64: 382-389.

Shahriari, M., Sahebzadeh, N., Zibae, A., Khani, A. & Senthil-Nathan, S. (2017). Metabolic response of *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) to essential oil of ajwain and thymol. Toxin Review. 36: 1-6.

❖ **Shen, Z. & Jacobs-Lorena, M. (1997).** Characterization of a novel gut-specific chitinase gene from the human malaria vector *Anopheles gambiae*. Journal of Biological Chemistry. 272(46): 28895-28900.

Shen, C.R, Chen, Y.S., Yang, C.J., Chen, J.K. & Liu, C.L. (2010). Colloid chitin azure is a dispersible, low-cost substrate for chitinase measurements in a sensitive, fast reproducible assay. Journal of Biomolecular Screening. 15: 213-217.

Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratyneck, C., New Hall. & Feidman, L. (1966). A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid

Références bibliographique.....

and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analytical Biochemistry*. 19: 415-528.

Ndiaye, S.B. (1999). Manuel de stockage et de conservation des céréales et des oléagineux. Atelier Autrichien de Développement (EWA) Cellule Centrale d'Appui Technique Aide au Développement Gembloux (ADG).

Soltani, M. & Abess, I.F. (2021). Effet d'une huile essentielle extraite de *Schinus molle* sur les ravageurs des denrées stockées. Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tebessi-Tébessa. 95 p.

Steele, J.E. (1981). The role of carbohydrate metabolism in physiological function. *Energy Metabolism in Insects*. Springer. 101- 133.

Steele, J.E. (1985). Hormonal modulation of Carbohydrate and lipid metabolism in fat body. *Insect Biology in future*, Academic Press. 253-271

-T-

Talukder, F.A. (2006). Plant products as potential stored product insect management agents. *Emirates Journal of Agricultural Science*.18: 17-32.

Terra, W. R. & Ferreira, C. (2005). Biochemistry of digestion. *Comprehensive Molecular Insect Science*. 4: 171-224.

Tietz, N.W. (1999). Text book of clinical chemistry, CA Burtis, ER Ashwood. WB Saunders. 652 : 1431.

Tine, S., Halaimia, A., Chechoui, J. & Tine-Djebbar, F. (2017). Fumigant Toxicity and repellent effect of azadirachtin against the lesser grain beetle, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Col.: Bostrichidae). Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration. 399-401.

Tong, F. & Coats, J. R. (2012). Quantitative structure-activity relationships of monoterpenoid binding activities to the housefly GABA receptor. *Pest Management Science*. 68 (8): 1122- 1129.

Trad M. & Tine A.O. (2022). Effects of menthol on nutritional physiology and enzyme activities of the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F. 1792) (Coleoptera: Bostrichidae). Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tebessi, Tébessa.

Tsujita, T., Ninomiya, H. & Okuda, H. (1989). p-nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose tissue. *Journal of Lipid Research*. 30(7) : 997-

-V-

Van Hensden, H.C. & Law, J.H. (1989). An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry*. 264 : 17287-17292.

-W-

Watanabe, K., Shono, Y., Kakimizu, A., Okada, A., Matsuo, N., Satoh, A. & Nishimura, H. (1993). New mosquito repellent from *Eucalyptus camaldulensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41(11): 2164-2166.

-Y-

Yahiatene, N. (2013). Effets insecticides de l'huile d'olive et de l'acide oléique sur les différents stades larvaires de développement de *Callosobruchus maculatus* (Coléoptéra : Bruchidae). Mémoire de Master en Biologie U.M.M.T.O. 26 P.

Yap, C.Y. & AW, T.C. (2010). Liver function tests (LFTs). *Proceedings of Singapore Health care*. 19 : 80-82.

Yazdani, E., Jalali Sendi, J., Khosravi, R., Hajizadeh, J. & Ghadamyari, M. (2012). Effect of *Satureja hortensis* L. essential oil on feeding efficiency and biochemical properties of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera:Pyralidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 1-12.

Yazdani, E., Sendi, J. J., Aliakbar, A. & Senthil-Nathan, S. (2013). Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep: Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 107(2) : 250-257.

Yazdani, E., Sendi, J.J. & 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.

-Z-

Zibae, A. & Bandani, A. R. (2010). Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on the digestive enzymatic profiles and the cellular immune reactions of the Sunnpest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutellaridae), against *Beauveria bassiana*. Bulletin of Entomological Research. 100(2) : 185-196.

Zibae, A., Zibae, I. & Sendi, J. J. (2011). A juvenile hormone analog, pyriproxifen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 100(3) : 289-298.

Zoghlami, L. (2015). Evaluation de l'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita* sur un lépidoptère *Ephestia kuehniella*. Master Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi Tébessa. 52p.

