

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie

Département de Biologie des êtres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecophysiologie animale



Effacité de deux biopesticides à l'égard d'un Coléoptère ravageur des denrées stockées

Présenté par :

Melle BOUTOUATA Amina

Melle BEN DIR Imene

Devant le jury :

Pr. TINE-DJEBBAR Fouzia	Pr Université de Tébessa	Président
Dr. TINE Samir	MCA Université de Tébessa	Rapporteur
Dr. BOUZERAA Hayette	MCB Université de Tébessa	Examineur
Doctorante GUETTAL Salima	Université de Tébessa	Membre invitée

Date de soutenance : Le 31/05/2018

Note :

Mention :

Remerciements

Avant tout, je remercie le bon Dieu qui m'a éclairé le chemin et m'a donné la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Pr. Fouzia TINE-DJEBBAR qui m'a fait l'honneur de présider le présent jury.

C'est un devoir d'exprimer toute ma gratitude et une infinie reconnaissance à M. Samir TINE pour avoir dirigé ce travail. Grâce à lui j'ai appris une bonne méthodologie de recherche et le goût du travail bien fait, je lui témoigne respect et déférence.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Melle. Hayette BOUZERAA qui a bien voulu accepter d'être membre de ce même jury et de me faire l'honneur de juger ce travail. Je lui témoigne mes sentiments de considération et de respect.

Je tiens à remercier également la doctorante G'UETAL Salima pour son soutien ses conseils prodigieux et ses efforts

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

DEDICACES

A ma Chère Mère Boutouata Chadia

A mon Père Boutouata Atik

*Dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont
permis de vivre ce jour.*

A mon Frères et mes sœurs Amine, Fulla, wejdane

A tous les gens m'aiment Moumen Souha, Ben hamlaoui

Manal, Bougosa Linda.....

A mon fiancé Chnikher Zin El Abidine

Boutouata Amina

DEDICACES

*A qui as était espéré quand t'elle m'a porté,
Étais heureuse quand t'elle m'a donné naissance ;
Et fatigué jusqu'à ce qu'elle m'ait procréé,
Et qu'elle est restée des nuits pour me rendre de mieux en mieux,
Mais les circonstances devraient partir avant de voir le fruit de ses
efforts*

*MA MERE je vous ai donné ce travail, peut-être compenser vos
efforts et travailles pour moi*

.....

*Je tien mes remerciements spéciaux à **MON PERE** : Affable,
honorable, aimable :*

*Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence,
La source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas
cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour
mener à bien mes études.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce
que tu mérites,*

*Pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma
naissance, Durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Tu as fait plus qu'un père puisse faire pour que ses enfants ; Suivent
le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

*Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé,
Longue vie et bonheur.*

.....

Sans oublier mes sœurs Madiha et son époux MONDHER , Satwa son époux TAHER et ses filles OMAIMA, NOUR SIN, RIMAS , JANA HOURIA et fils AYOUB ; IYAD ; SOUHAIB ; aussi que mes frères Ramzi et Ishak

.....

Je dédis ce travail A QUI M'AIDE pour faire tout les préparations de cette soutenance,

Mon âme sœur et la lumière de mon chemin. , Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises.

Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, Ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance.

.....

Je remercie MES AMIS d'enfances hadjira, romaïssa, nahla, sara et mes collègues de la traïlle et tous qui me connu...

IMANE BENDIR



Sommaire

Sommaire	Page
I. INTRODUCTION.....	02
II. MATERIEL ET METHODES.....	05
II.1. Présentation de l'insecte.....	05
II.1.1. Caractéristique.....	05
II.1.2. Cycle de vie.....	06
II.1.3. Classification.....	07
II.1.4. Etude morphologique.....	07
II.1.5 Techniques d'élevage.....	08
II.2. Présentation de l'Azadirachtine.....	09
II.2.1. Définition.....	09
II.2.2. La formule chimique.....	10
II.3. Présentation de <i>Citrus Limonum</i>.....	10
II.3.1. Définition.....	10
II.3.2. La disposition systématique.....	11
II.3.3. Structure chimique.....	11
II.4. Collecte de la plante et extraction des huiles.....	12
II.5. Traitement des insectes.....	14
II.5.1. Toxicité par fumigation.....	14
II.5.2. Dosage Biochimique et Biomarqueur	15
II.5.2.1. Extraction et dosage des métabolites.....	15
5.2.1.1. Dosage des protéines totales.....	17
5.2.1.2. Dosage des glucides totaux.....	17
5.2.1.3. Dosage des lipides totaux.....	18
II.5.2.2. Dosage de Biomarqueurs.....	18
5.2.2.1. Dosage des Glutathion S-Transférases.....	18
5.2.2.2. Dosage des Glutathion	20
5.2.2.3 Dosage de la catalase.....	23
II.6. Analyse statistique.....	24
III. RESULTAS.....	26
III.1. Rendement en huile essentiel.....	26
III.2. Essais toxicologiques.....	26
III.2.1. Toxicité par fumigation.....	26

III.3. Effet de l’AZAD et <i>C. limonum</i> combinée sur la composition biochimique de <i>S.granarius</i>.....	27
III.3.1. continue en glucides totaux.....	28
III.3.2. Continue en protéine totale.....	29
III.3.3. Continue en lipides totaux.....	31
III.4. Effet des huiles essentielles extraites de l’AZAD et <i>C. limonum</i> combinée sur biomarqueur.....	32
III.4.1. Effet sur l’activité spécifique de GSTs	32
III.4.2. Effet sur le taux du glutathion.....	34
III.4.3.Effet sur l’activité spécifique de la catalase.....	35
IV. DISCUSSION.....	38
IV.1. Rendement des huiles essentielles.....	38
IV.2. Toxicité de l’AZAD et de <i>C. limonum</i> combinée à l’égard de <i>S.granarius</i>.....	38
IV.3. Effet sur la composition biochimique de <i>S. granarius</i>.....	40
IV.4. Effet sur les Biomarqueurs.....	42
IV.4.1. Effet sur l’activité spécifique de GSTs	43
IV.4.2. Effet sur le taux du glutathion.....	44
IV.5.3.Effet sur l’activité spécifique de la catalase.....	46
V.CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	47
RESUME.....	
REFERENCE ET BIBLIOGRAPHIQUE.....	

LISTE DES TABLEAUX

No	Titres des tableaux	Page
Tableau 1	Le tableau suivant montre la classification du <i>S.granarius</i> selon (Balachowsky A S, 1962)	07
Tableau 2	Dosage des protéines totales chez les adultes de <i>S. granarius</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	17
Tableau 3	Dosage des glucides totaux chez les adultes de <i>S.granarius</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	17
Tableau 4	Dosage des lipides totaux chez les moustiques: réalisation de la gamme d'étalonnage.	18
Tableau 5	Effet de l'AZAD et <i>C.limonum</i> appliqué par fumigation sur des adultes de <i>S.granarius</i> sur le taux des mortalités corrigées à différentes périodes.	26
Tableau 6	Efficacités l'AZAD et <i>C.limonum</i> appliqué sur des adultes de <i>S. granarius</i> : analyse des probits.	27
Tableau 7	Effet de L'AZAD et <i>C. limonum</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les adultes de <i>S. granarius</i> .	28
Tableau 8	Effet de L'AZAD et <i>C. limonum</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez adultes de <i>S.granarius</i> au cours de différentes périodes.	30
Tableau 9	Effet de L'AZAD et <i>C. limonum</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les adultes de <i>S. granarius</i> cours de différentes périodes.	31
Tableau 10	Effet des H.E de <i>C. limonum</i> et l'AZAD (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéine) chez les adultes de <i>S. granarius</i> au cours de différentes périodes.	33
Tableau 11	Effet des H.E (CL ₂₅ et CL ₅₀) extraites de <i>C. limonum</i> sur et l'AZAD sur le taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez les adultes de <i>S. granarius</i> au cours de différentes périodes.	34
Tableau 12	Effet des H.E (CL ₂₅ et CL ₅₀) extraites de <i>C.limonum</i> et l'AZAD sur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les adultes de <i>S. granarius</i> cours de différentes périodes.	36

LISTE DES FIGURES

N°	Titres des figures	Page
Figure 1	présentation de <i>S. granarius</i> (Studyandscore.com)	05
Figure 2	représente Le charançon du blé (<i>S.granarius</i>) (Studyandscore.com).	06
Figure 3	Le charançon du blé, <i>S.granarius</i> / Famille <i>curculionidés</i> (Studyandscore.com)	07
Figure 4	cycle biologique de <i>S. granarius</i> (Studyandscore.com)	08
Figure 5	Ces figures représentent le processus de tri des insectes en laboratoire de recherche. (Boutouata et Ben dir, 2018)	09
Figure 6	Structure chimique de l'AZAD.	10
Figure 7	Structure chimique de citron (<i>C. limonum</i>) fr.wikipedia.org/wiki/Azadirachtine	12
Figure 8	L'extraction des huiles essentielle (<i>C. limonum</i>).	13
Figure 9	Test de toxicité par fumigation.(Boutouata et Ben dir, 2018)	14
Figure 10	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko S <i>et al.</i> , 1967).	16
Figure 11	Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habig W H <i>et al.</i> ,1974).	20
Figure 12	Extraction et dosage du glutathion (GSH) (Weckberker G et Cory J, 1988).	22
Figure 13	Extraction et dosage de la catalase (CAT)(Claiborne, 1935).	24
Figure 14	Effet de l'AZAD et <i>C. limonum</i> par fumigation sur la mortalité corrigées chez les adultes du <i>S. granarius</i> différentes périodes	27
Figure 15	Effet de L'AZADet <i>Citrus limonum</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les adultes de <i>S. granarius</i> à différentes périodes	29
Figure 16	Effet de L'AZAD et <i>C. limonum</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez adultes de <i>S. granarius</i> à différentes périodes.	30
Figure 17	Effet de L'AZAD et <i>C.limonum</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le contenu en lipides totaux(µg/individu) chez les adultes de <i>S. granarius</i> à différentes périodes	32
Figure 18	Effets des H.E extraites de <i>C. limonum</i> et l'AZAD (CL ₂₅ et CL ₅₀), sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéine) chez les adultes de <i>S. granarius</i> à différentes périodes.	33
Figure 19	Effets des H.E (CL ₂₅ et CL ₅₀) extraites de <i>Citrus limonum</i> , sur le taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez l les adultes de <i>S. granarius</i> à différentes périodes.	35
Figure 20	Effets des H.E (CL ₂₅ et CL ₅₀) extraites de <i>Citrus limonum</i> , et l'Azadirachtinesur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) les adultes de <i>S. granarius</i> à différentes périodes.	36

LISTE DES ABREVIATIONS

AZAD : Azadirachtine.

CAT: catalase

CL25: Concentration létale de 25% de la population

CL50: Concentration létale de 50% de la population

GST: glutathion S-transférase

GSH: glutathion S-déshydrogénase (glutathion réduit).

H.E: huile essentielle

1V/1V : deux solutions avec un même volume

m: moyenne

n : nombre de répétitions

p : coefficient de signification

ppm : partie par million

SEM : écart- moyen

T- : Témoin



Introduction

I. Introduction

Le développement économique implique une augmentation de la productivité agricole, pour satisfaire les besoins alimentaires grandissants de la population (Bensafi-Ghraibia H, 2015). En 2050 la demande alimentaires mondiale devrait avoir augmenté de 60 pour cent au moins par rapport à son niveau de 2006, et ce sous l'effet de l'accroissement de la population (FAO, 2016).

La protection des produits agricoles contre les ravageurs est une préoccupation primordiale pour le gouvernement ainsi que les agriculteurs et les personnes sont impliqués à cette affaire (Masumeh Z, 2014). En pays en voie de développement les insectes des grains stockés peuvent causer des pertes pondérales pouvant dépasser au cours du stockage jusqu'à 20% de la quantité récoltée (Phillips et Throne, 2010). Les ravageurs des céréales stockées peuvent causer de graves dégâts aux stocks de grains et produit céréaliers (<http://www.sojam.fr/wp-content/uploads/PIRIGRAIN-Guide-conseil.pdf>). Les méthodes utilisées pour limiter les pertes lors du stockage sont généralement les insecticides chimiques qui peuvent induire une intoxication chronique des consommateurs, une résistance chez les ravageurs, et un impact négatif sur l'environnement. (L.S.T.Ngamo et Th Hance, 2007).

Cependant les préoccupations sur la santé et les problèmes environnementaux associés à l'augmentation de l'utilisation croissante des insecticides synthétiques actuellement utilisés dans l'agriculture ont conduit à une intensification des efforts pour trouver des alternatives efficaces et durable (Tapondjou A.Let *et al.*, 2005). Pour faire face à ces enjeux et répondre aux besoins mondiaux de lutte contre les pertes suite aux ravageurs, l'industrie phyto pharmaceutique essaye de trouver de nouveaux outils de protection, de nouvelles molécules issues de produits naturels communément appelé pesticides biologiques (Negahban *et al.*, 2012). Récemment, il y a eu un intérêt croissant concernant l'utilisation possible d'extrait de plante comme alternative aux insecticides synthétiques (Faridehet *et al.*, 2008). Ces huiles relativement sûres et leur efficacité a été démontrée contre différentes espèces d'insectes (Abbasipour *et al.*, 2011).

Les insectes ravageur Charançon du blé (*Sitophilus granarius*) en sa qualité de ravageurs primaire, il ouvre souvent la voie à d'autre ravageurs des grains stockés, les larves vident les grains de blé. (Anticimex *et al.*, 2014).

Plus de 2000 espèces de plantes contenant des substances bioactives ont été rapportées (Ishtiaq *et al.*, 2016) ; le mode d'action des huiles essentielles est de mieux en mieux connu, chez les insectes, plusieurs travaux récents montrent que les monoterpènes ont une action inhibitrice sur l'acétylcholin-estérase (Lopez MD et Pascual-Villalobos MJ, 2010). En général les huiles essentielles sont de nos jours connues comme des neurotoxines à effets aigus interfèrent avec les neurotransmetteurs cholinergiques des arthropodes (Picollo M. I *et al.*, 2008). De plus ces huiles sont peu toxiques pour les animaux à sang chaud, volatiles et très toxiques chez les insectes (L.S.T Ngamo *et al.*, 2007).

Ce travail vient clôturer l'enchaînement d'une série de travaux qui ont été entamés portant sur l'activité de l'extrait de Neem l'*Azadirachtin* (Bezzar-Bendjazia R.,2016) et les extraits des huiles essentielles du citron « *Citrus limonum* » (Patrik N *et al.*, 2016) qui ont été menés dans le laboratoire de biologie au sein de l'université de Tébessa. Au cours de ce travail on a cherché à voir l'effet combiné de ces deux produits au niveau toxicologique, biochimique (dosage des protéines, glucides et lipides) et biomarqueurs enzymatiques (GSTs et Catalase) et non enzymatiques (GSH).



*Matériels et
Méthodes*

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Présentation de l'insecte

II.1.1. Caractéristiques

Le charançon du blé *Sitophilus granarius* / Famille *curculionidés*, l'adulte est brun foncé, pratiquement noir, avec une apparence luisante, caractérisé par un rostre bien visible légèrement recourbé, équipé de pièces buccales broyeuses (Figure 01) (Anonyme, 2014)

Le prothorax est aussi long que l'abdomen dont les élytres sont rainurés. Il mesure 3,5 à 5 mm et ne vole jamais (absence d'ailes postérieures membraneuses). Sa larve de 2,5 à 3 mm de longueur est blanche, à tête brun clair et sans pattes. (Z.Immanuel et *al*, 2004)

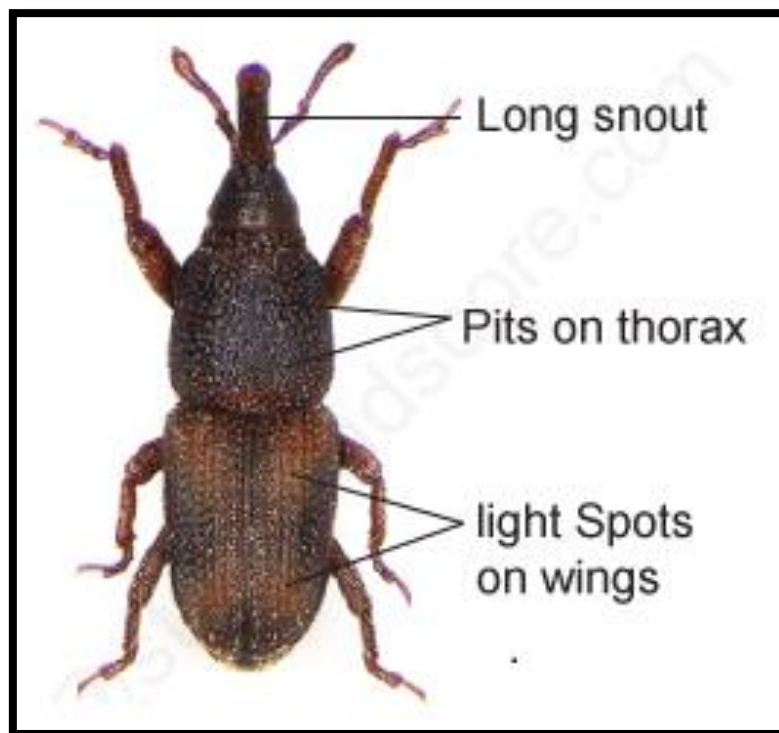


Figure 01 : *Sitophilus granarius* (Studyandscore.com)

II.1.2. Cycle de vie

Le charançon du blé (*Sitophilus granarius*) ne peut se reproduire que dans un grain dont le taux d'humidité est supérieur à 9,5%, sur une plage de températures allant de 13 à 35°C. La femelle pond environ 200 œufs, à une vitesse de 2 ou 3 par jour, en fonction de la température et de l'humidité, en plaçant chacun d'eux dans un petit trou creusé dans le grain et en scellant celui-ci avec un bouchon de salive mucilagineux. A 18-20°C, les œufs éclosent après 8 à 11 jours pour donner naissance à de petites larves blanches, dépourvues de pattes et qui se nourrissent de l'endosperme du grain. Une seule larve se développe parmi les petites graines comme celles du blé et du riz, mais des graines plus grosses comme celles du maïs supportent le développement de plusieurs spécimens. (Immanuel et *al*, 2004)

Les larves ne vivent jamais à l'air libre et se développent entièrement à l'intérieur du grain. Elles muent quatre fois, pour finalement se transformer en nymphes au sein des graines, après 6 à 8 semaines. Les adultes émergent après 5 à 16 jours supplémentaires et vivent environ 9 mois. S'ils sont dérangés, ils feignent la mort en repliant leurs pattes sur leur corps et en restant dans cette position. A une température de 15°C et avec un taux d'humidité du grain égal à 11,3%, le cycle de vie complet s'étend sur 6 mois. (<://mhjfbmdgcfjbbpaeojfohoefgiehjai/index.html>)

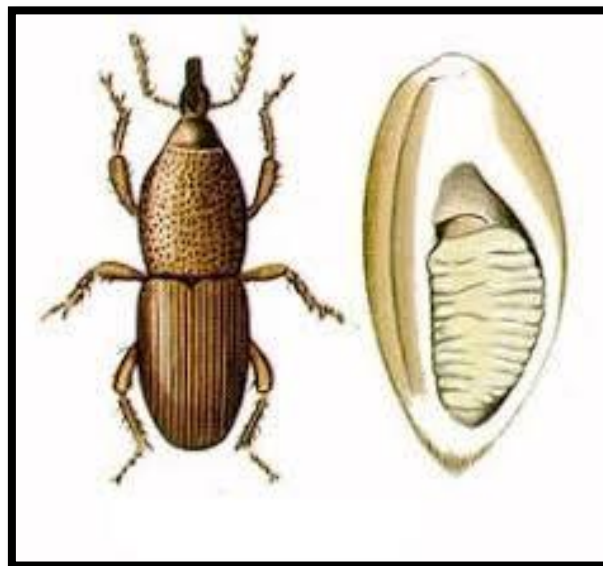


Figure 02 : Le charançon du blé (*Sitophilus granarius*) (Studyandscore.com)

II.1.3. Classification

Tableau 01 : Le tableau suivant montre la classification du charançon du blé selon (Balachowsky AS, 1962)

Nom scientifique :	Curculionidea
Règne :	Animalia
Ordre :	Colioptera
Sous-classe :	Pterygota
Sous-embranchement :	Hexapoda
Sous-ordre :	Endoptrogy

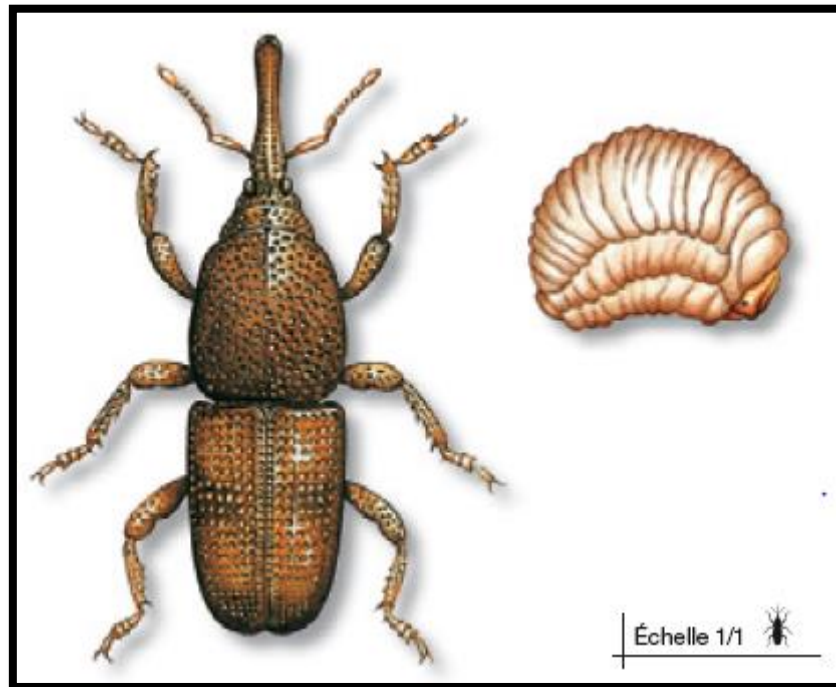


Figure 03 : Le charançon du blé, *S. granarius*/ Famille *curculionidés*(Studyandscore.com)

II.1.4. Etude morphologique

- A. Œufs :** oblong, blanc, environ 0,6mm x 0,3mm.(Anticimex et *al.*,2014).
- B. Larves :** ver apode doté d'une capsule de tête jaunâtre. (Mourier A, 1979).
- C. Adultes :** environ 4mm. Imago: 4 - 5mm, brun clair à pratiquement noir (en fonction de l'âge).(Delobel et Tran, 1993)

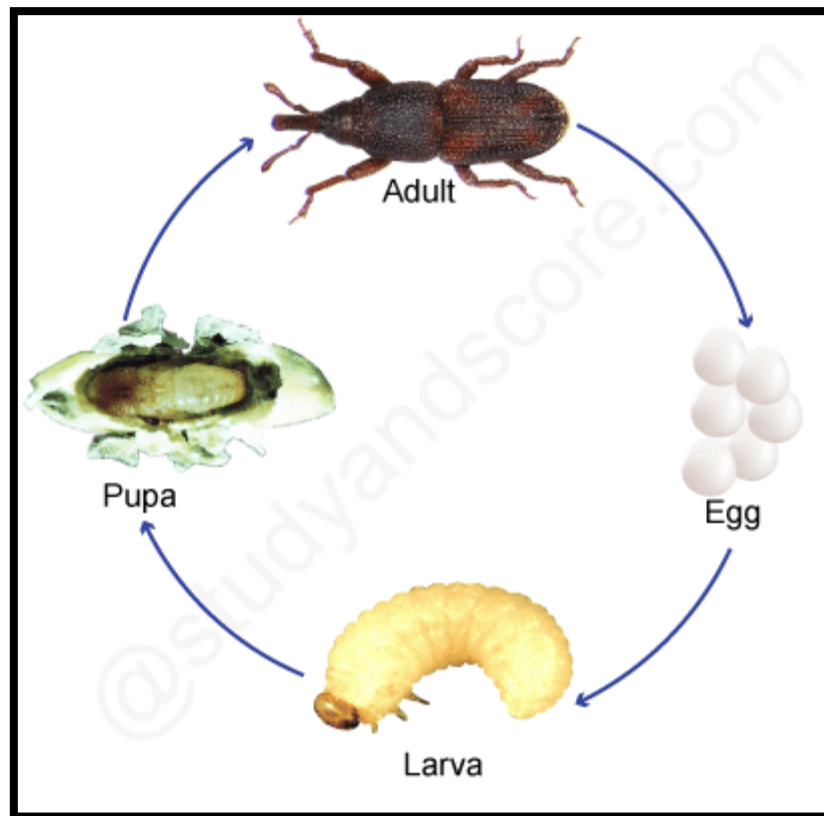


Figure 04 : cycle biologique de *S. granarius*(Studyandscore.com)

II.1.5. Technique d'élevages

Les insectes ravageurs *S. granarius* ont été pris à partir de Ccls (Coopératives des céréales et des légumes secs) de la région de Tébéssa, on les a criblé dans un tamis de 2 mm, avec un papier filtre blanc pour qu'on puisse repérer avec l'œil notre espèce par la suite on les a mis dans un nouveau blé et les classer dans une boîte.



Figure 05 : le processus de tri des insectes en laboratoire de recherche (Photos personnels)

II.2. Présentation de l'*Azadirachtine*

II.2.1. Définition

L'*Azadirachtine* est un composé d'origine naturelle de la famille des *limonades*. C'est un métabolite secondaire présent dans l'huile extraite des graines d'*Azadirachtine* (aussi appelé *margousier*, ou *neem*), il est aussi présent dans toutes les parties de *Melia azedarach* (fr.wikipedia.org/wiki/Azadirachtine)

L'*Azadirachtine* commercialisé sous le nom de *NeemAzal- T/S* est composé d'*Azadirachtine* A (1% d'*Azadirachtine* ; Emulsion concentrée (EC) ; Firme : Trifolio R MGmbH, Lahnau, Germany). La masse molaire de l'*Azadirachtine* A est de $720,7 \text{ g.mol}^{-1}$ (Bezzar-Bendjazia R, 2016).

II.2.2. La formule chimique

La formule chimique de l'*Azadirachtine* est : $C_{35}H_{44}O_{16}$. Cette formulation émulsifiable dans l'eau, correspond à un liquide brun avec une odeur caractéristique du Neem (figure 6) (Bezzar-Bendjazia R, 2016)

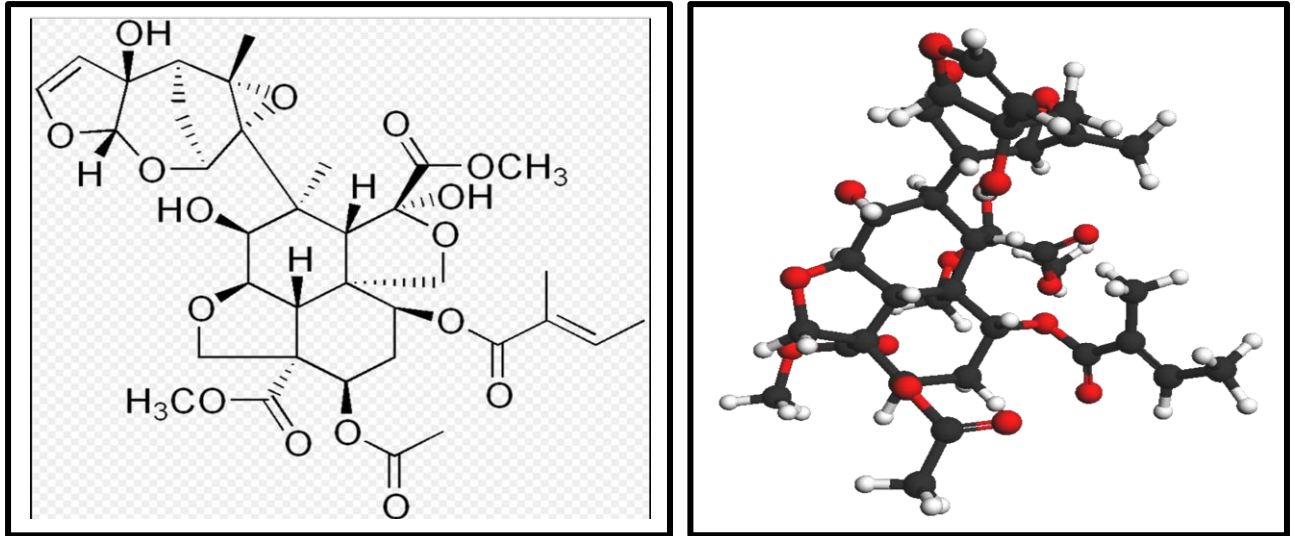


Figure 06 : Structure chimique de l'*Azadirachtine*

II.3. Présentation de citron (*citrus limonum*)

II.3.1. Définition

Le citronnier est un arbre de taille moyenne de 3 à 5 mètres de longueur, originaire de l'Inde ou de la Chine. Ses feuilles persistantes lancéolées de couleur verte contiennent de glandes riches en huile essentielle. Les fleurs, se situent à l'aisselle des feuilles en forme de bouquets, formées de 5 pétales épais et libres. Les fruits ayant une taille moyenne de 5 à 10 cm, possèdent un mamelon sur les deux extrémités. Ils sont très riches en vitamine C. (Burm, 1768).

II.3.2. La disposition systématique (fr.wikipedia.org/wiki/Citronnier)

Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridaeplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Equisetopsida
Sous-Classe	Magnoliidae
Super-Ordre	Rosanae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citruslimonum</i>

II.3.3. Structure chimique de citron (*Citrus limonum*)

Le citronnier, *Citrus limonum*, est une espèce de petits arbres de la famille des *Rutacées*, cultivée dans les régions méditerranéennes et subtropicales pour son fruit le citron, dont le jus est utilisé principalement comme condiment. L'origine de l'espèce est un hybride entre le cédratier et l'orange amère.(fr.wikipedia.org/wiki/Citronnier)

Il est composé principalement de :(Julia Mouton, 2011/2012)

- Limonène (60 à 70%)
- Béta-pinène (8 à 15%)
- Citral (Géranial + Néral) (1 à 5%)
- Linalol ($\leq 0,2\%$)
- Gamma-terpinène (6 à 13%)
- Géraniol ($\leq 0,1\%$)

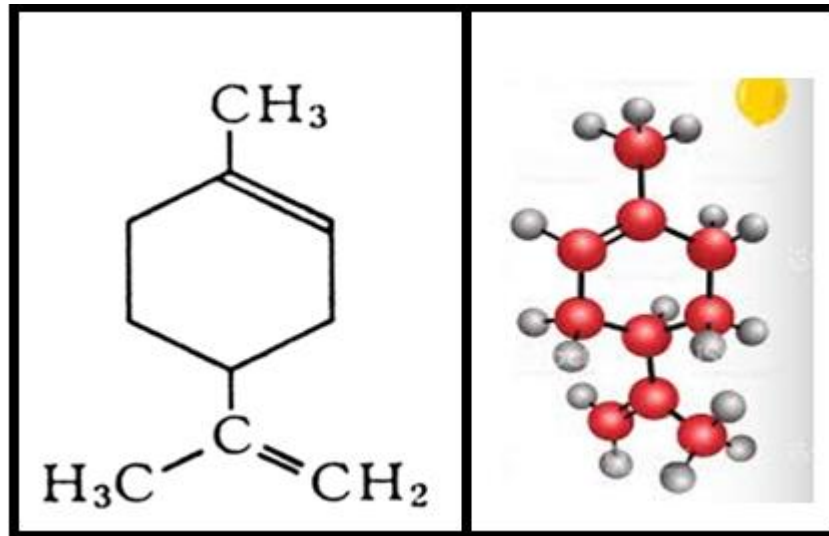


Figure 07: Structure chimique de citron (*citrus limonum*)(fr.wikipedia.org/wiki/Citronnier)

II.4. Collecte de la plante et extraction des huiles essentielles

Après avoir recueillies, les feuilles du citron de la région de Tébessa (cartier bourgeois) et les nettoyées, coupées en petits morceaux et les placées dans le congélateur.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type clavenger.

Elle est réalisée par ébullition d'un mélange de 50 g de matériel végétal et 500 ml d'eau distillée pendant 3 heures. À la fin de la distillation, l'H.E recueillie par décantation est conservée à 4°C dans des petits flacons bien fermés en verre ombré.

Le rendement en huile essentielle est obtenu du rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière végétale, par la formule suivante :

$$R = P_B / P_A \times 100$$

OU

$$R = [\sum P_B / \sum P_A] \times 100$$

R : Rendement en HE en %.

P_B : Poids d'HE en gr.

P_A : Poids de matière sèche de la plante en gr.

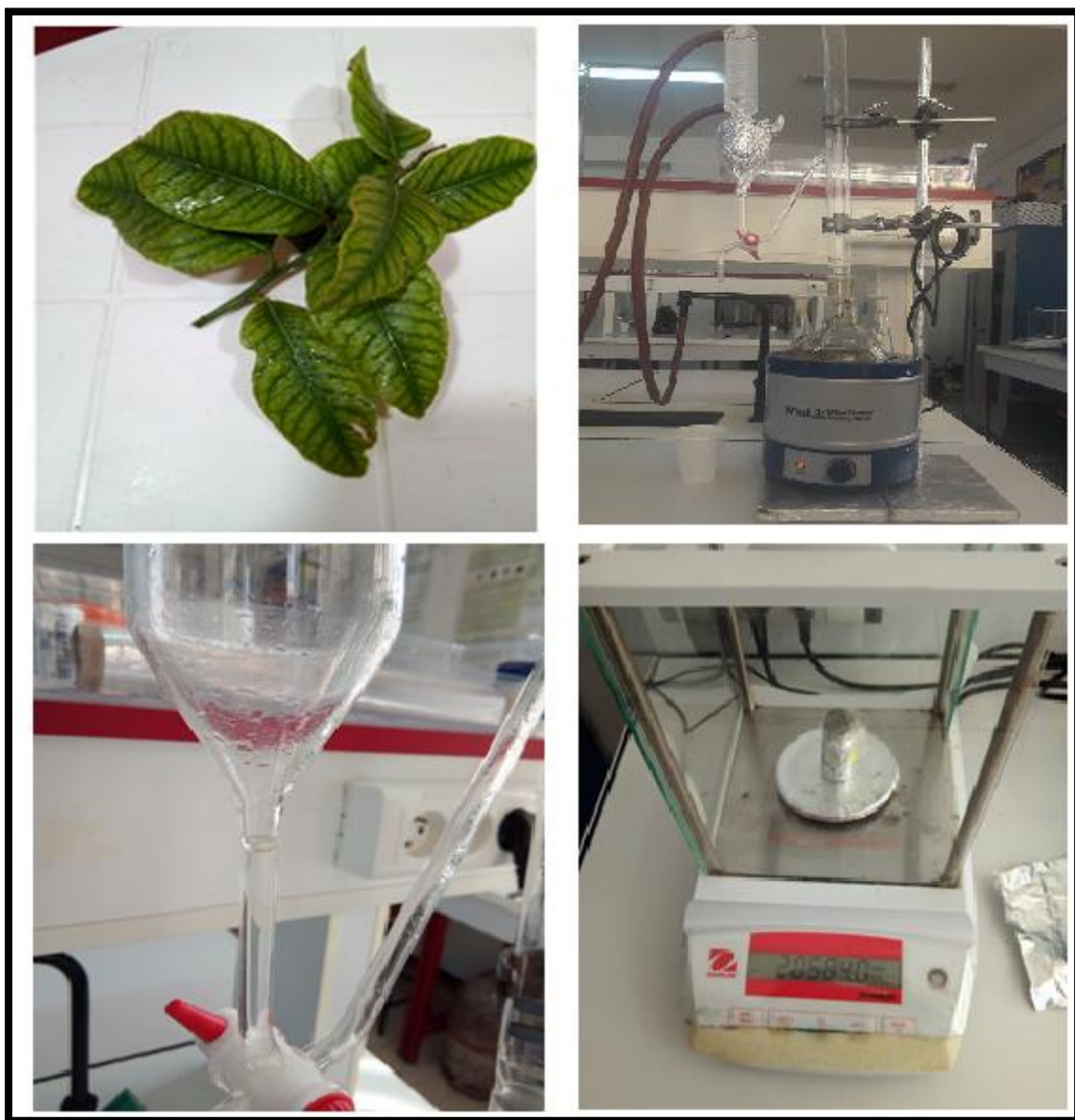


Figure 08 : Extraction des huiles essentielles (*Citrus limonum*) (Photos personnels)

II.5. Traitement des insectes

II.5.1. Toxicité par fumigation

Après avoir recueilli les insectes, il faut prendre un flacon en plastique et pesé 10 grammes de blé avec 10 individus d'insecte. Du papier filtre coupé sous forme de disque de 2,5 cm de diamètre suspendue à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle. Et mettre les différentes concentrations CL 25 (10,69 ppm) et la CL 50 (35,84 ppm) et laisser sécher à température ambiante et à la fin on ferme le Flacon.

La mortalité a été enregistrée à 24,48 et 72h après traitement, Ensuite, les résultats sont analysés après transformation et correction à l'aide de la formule d'Abbott (1925), afin de calculer les concentrations sous létales et létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ceci grâce au Logiciel GRAPH PAD PRISM 6.

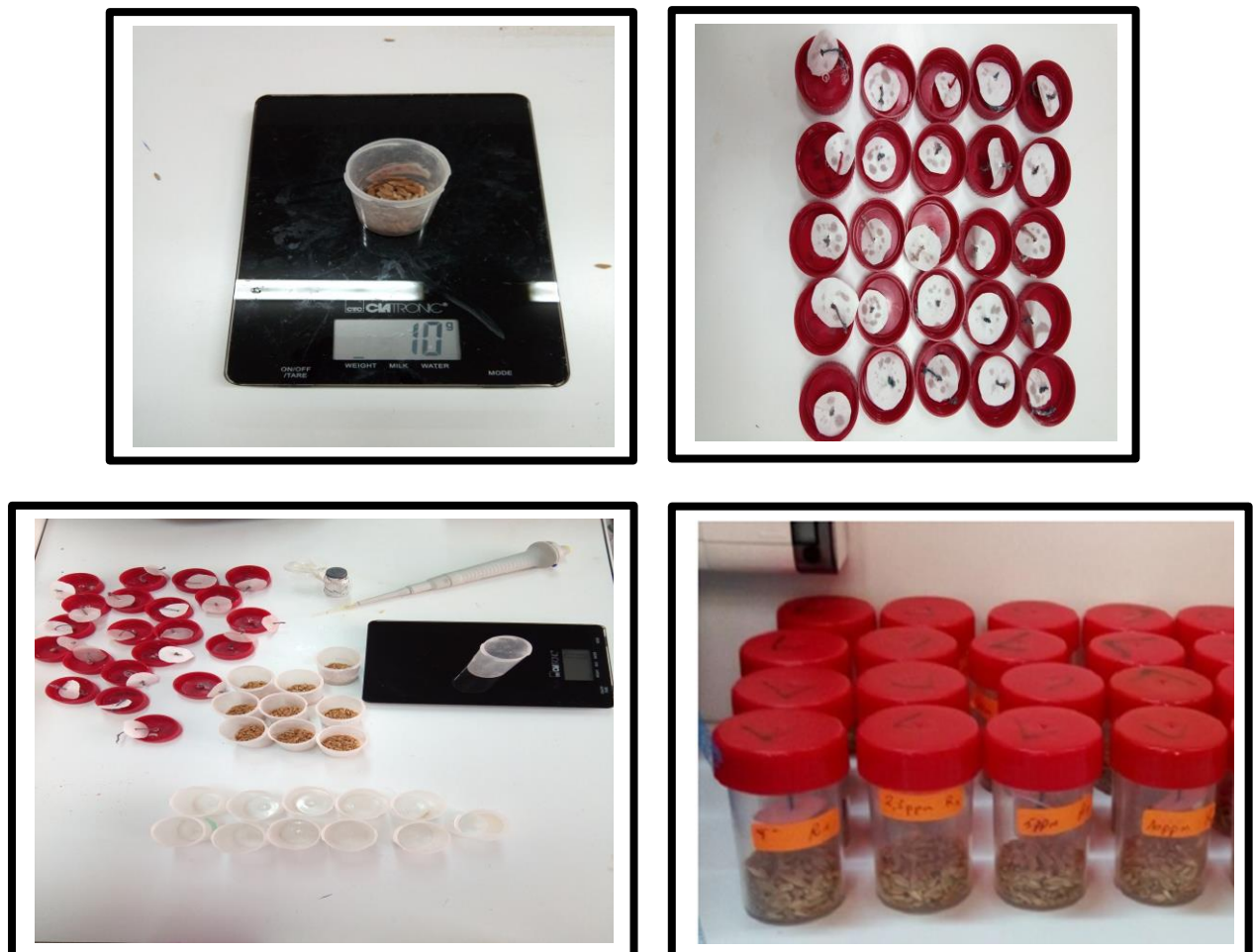


Figure 09 : Test de toxicité par fumigation. (Photos personnels)

II.5.2. Dosage métabolites et des Biomarqueurs

Pour réaliser cette partie on a procédé comme suit

1. Un lot témoin
2. Un lot traité à la CL 25 (10,69 ppm) à 72 h
3. Un lot traité à la CL 50 (35,84 ppm) à 72h

Disposés dans des flacons cylindrés en plastique (60ml) contenant chacun 10 grammes de blé avec 10 individus, avec du papier filtre coupé sous forme de disque de 2,5 cm de diamètre suspendue à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle ; chaque lot contient trois répétitions. Les échantillons serviront pour le dosage biochimique et des biomarqueurs.

II.5.2.1. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de Shibkoet *al.*, (1966), et les principales étapes sont résumées dans la Figure 10. Les échantillons sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrasons. Après une première centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau et Florin, (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford, (1976).

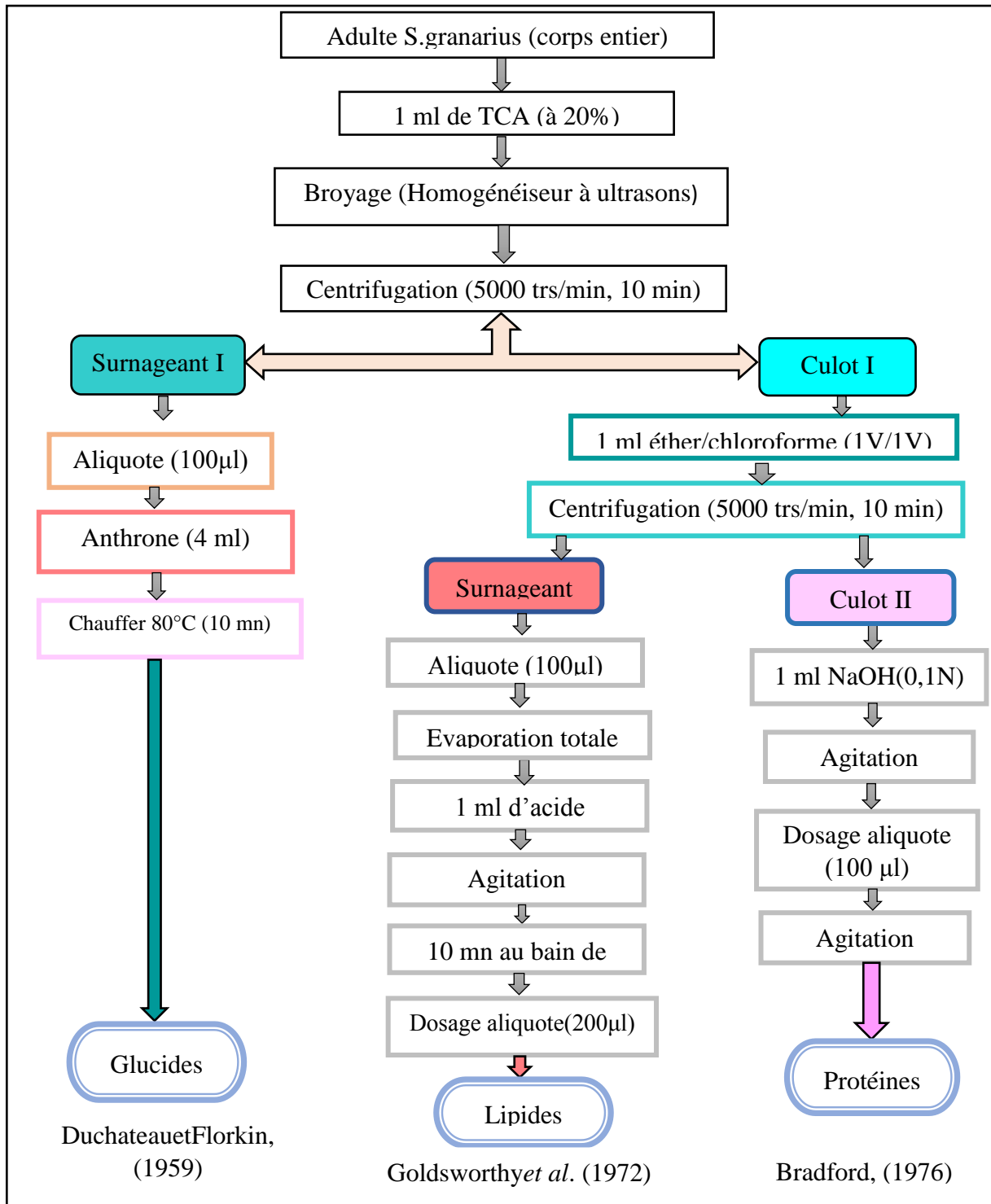


Figure10 : Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibkoet al., 1967).

5.2.1.1. Dosage de protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (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 2).

Tableau 2: Dosage des protéines totales chez les adultes des charançons du blé réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	0	2	3	4	5	6
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
Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100

5.2.1.2 Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau et Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 μ l du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'antrone 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 3).

Tableau 3: Dosage des glucides totaux chez les adultes des charançons du blé: réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'antrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose (μg)	0	20	40	60	80	100

5.2.1.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972), en utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Le dosage des lipides se 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 4).

Tableau 4: Dosage des lipides totaux chez les moustiques: réalisation de la gamme d'étalonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V)	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

II.5.2.2. Dosage des biomarqueurs

Les adultes des séries témoins et traitées aux huiles essentielles ont été utilisées pour le dosage de l'activité enzymatique de la catalase, des glutathion S-transférases (GST) et du taux du glutathion (GSH).

5.2.2.1. Dosage des glutathion S-transférases

Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosolique, impliquées dans diverses opérations de transport et de biosynthèse intracellulaire. Les GSTs jouent un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques; elles catalysent souvent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH). Les produits sont ensuite métabolisés en acide mercapturique et excrétés au niveau de la bile et des urines (Habig W H *et al.*, 1974)

Les Adultes du charançon de blé témoins sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 10 individus avec une série témoin. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (14000 trs/min à 4°C pendant 30 min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs (Figure 11).

Le dosage est réalisé selon la méthode de Habig et *al.*, (1974), il consiste à faire réagir 200 µl de surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1M) /GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante:

$$x = \frac{DDo}{9,6} \cdot \frac{Vt}{Vs} \quad \text{mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

ΔDo: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6: coefficient d'extinction molaire du CDNB.

Vt: volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

Vs: volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

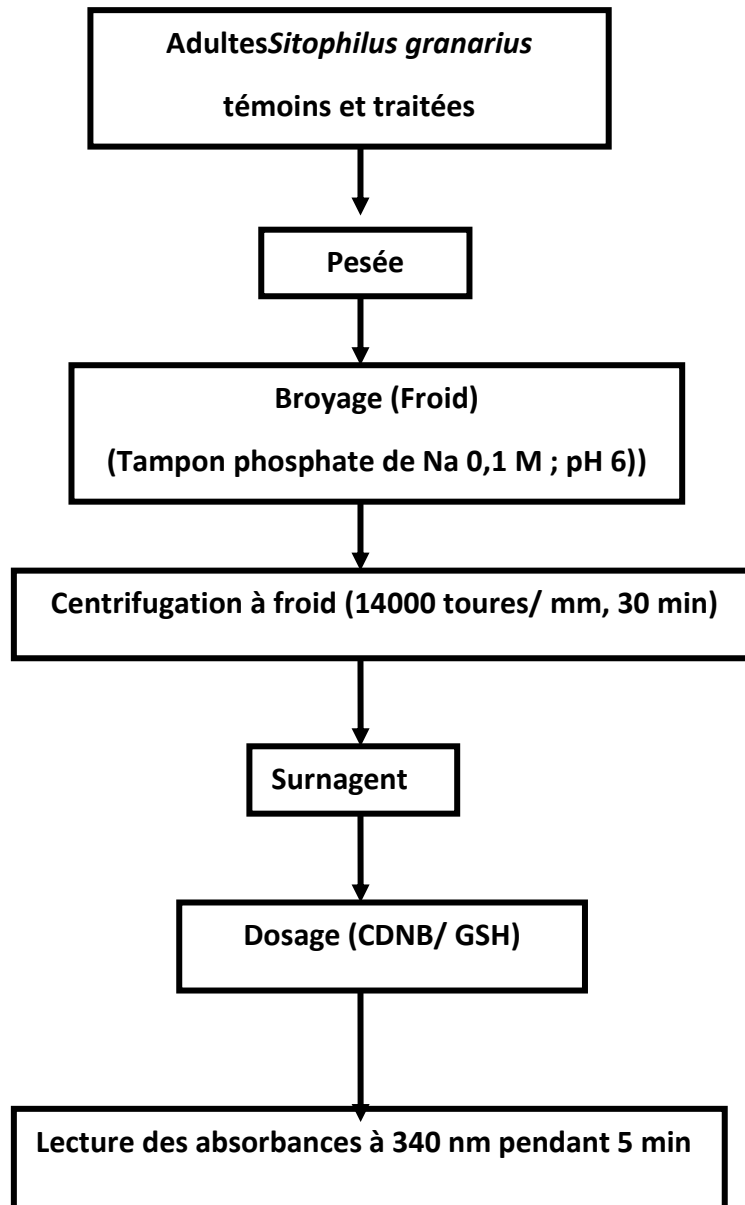


Figure 11 : Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habig W H *et al.* ,1974)

5.2.2.2. Dosage du glutathion

Le glutathion (GSH) est un composé thiol constitué d'une succession de trois acides aminés: l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Il joue un rôle antioxydant. Dans les conditions normales, le glutathion se trouve, soit sous forme réduite et libre (GSH) soit sous forme oxydée (GSSG) ou bien lié à des protéines (GSS-prot) ou à des résidus appropriés comme le coenzyme A. La fonction thiol lui confère ses principales propriétés biochimiques.

Les Adultes du *S.granarius* témoins et traitées à la CL₂₅ et la CL₅₀, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) puis pesées. Elles sont ensuite homogénéisées dans une solution d'EDTA (0,02 M) [7,448 g ECTA, 1000 ml eau distillée] à raison de 0,8 ml par 200 mg de poids. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 10 individus avec une série témoin.

L'homogénat (800 µl) additionné d'acide sulfosalicylique ASS (200 µl) est vortexé et laissé pendant 15 min dans un bain de glace. Après une centrifugation (1000 trs/min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et utilisé comme source d'enzyme (Figure 12).

Le dosage est réalisé selon la méthode de Weckberker G et Cory J, (1988) comme suit: une aliquote de 500 µl du surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris / EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante:

$$x = \frac{DDo / mn}{9.6} \cdot \frac{Vd}{Vh} \cdot \frac{Vt}{Vs} / \text{ mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM / mg de protéines).

Δ Do: différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1: coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

Vd: volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation: 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh: volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation: 0,8 ml.

Vt: volume total dans la cuve: 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris / EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs: volume du surnageant dans la cuve: 0,5 ml.

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

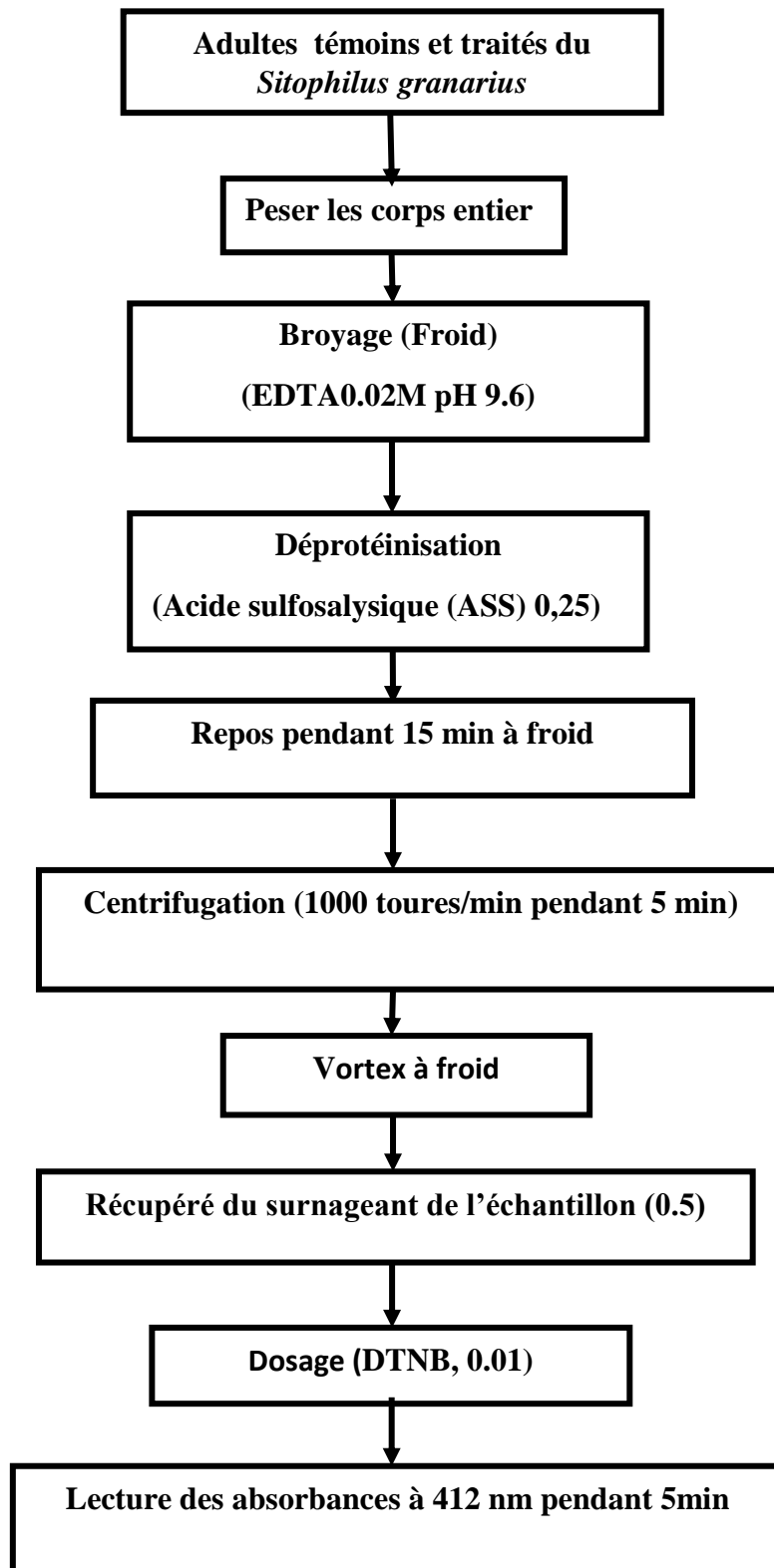
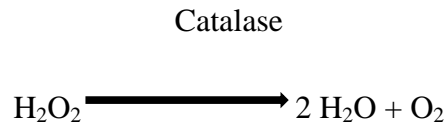


Figure 12: Extraction et dosage du glutathion (GSH) (Weckberker G et Cory J, 1988)

5.2.2.3. Dosage de la catalase

Le dosage de la catalase (CAT) est réalisé selon la technique de Claiborne (1935). Cette technique est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H_2O_2) en une molécule d'oxygène (O_2) et deux molécules d'eau (H_2O) en présence de la CAT, selon la réaction suivante:



Les Adultes sont homogénéisées dans 1 ml de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4), puis centrifugé à 15000 trs/min, pendant 10 mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme (Figure 13).

Le dosage de la CAT s'effectue dans une fraction aliquote de 50 μl du surnageant dilué de façon à se situer entre 1 et 1,5 mg de protéine/ml, soit 0,05 à 0,75 mg dans la cuve, à laquelle on ajoute 750 μl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) et 200 μl H_2O_2 (500mM) préparé extemporanément [1,42 ml H_2O_2 à 30 volume (garder en chambre froide), 25 ml tampon phosphate (100 mM, pH 7,4)]. Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre après 15 secondes d'attente toute les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm contre un blanc avec 800 μl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) et 200 μl H_2O_2 (500 mM).

L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante:

$$X = \frac{\text{Domax} - \text{Domin}}{0.04} \text{ mg de protéines}$$

X: micromole de substrat réduit par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M} / \text{mn} / \text{mg}$ de protéines).

Do max: densité optique maximum obtenue.

Do min: densité optique minimum obtenue.

0,04: coefficient d'extinction molaire du H_2O_2 ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$).

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

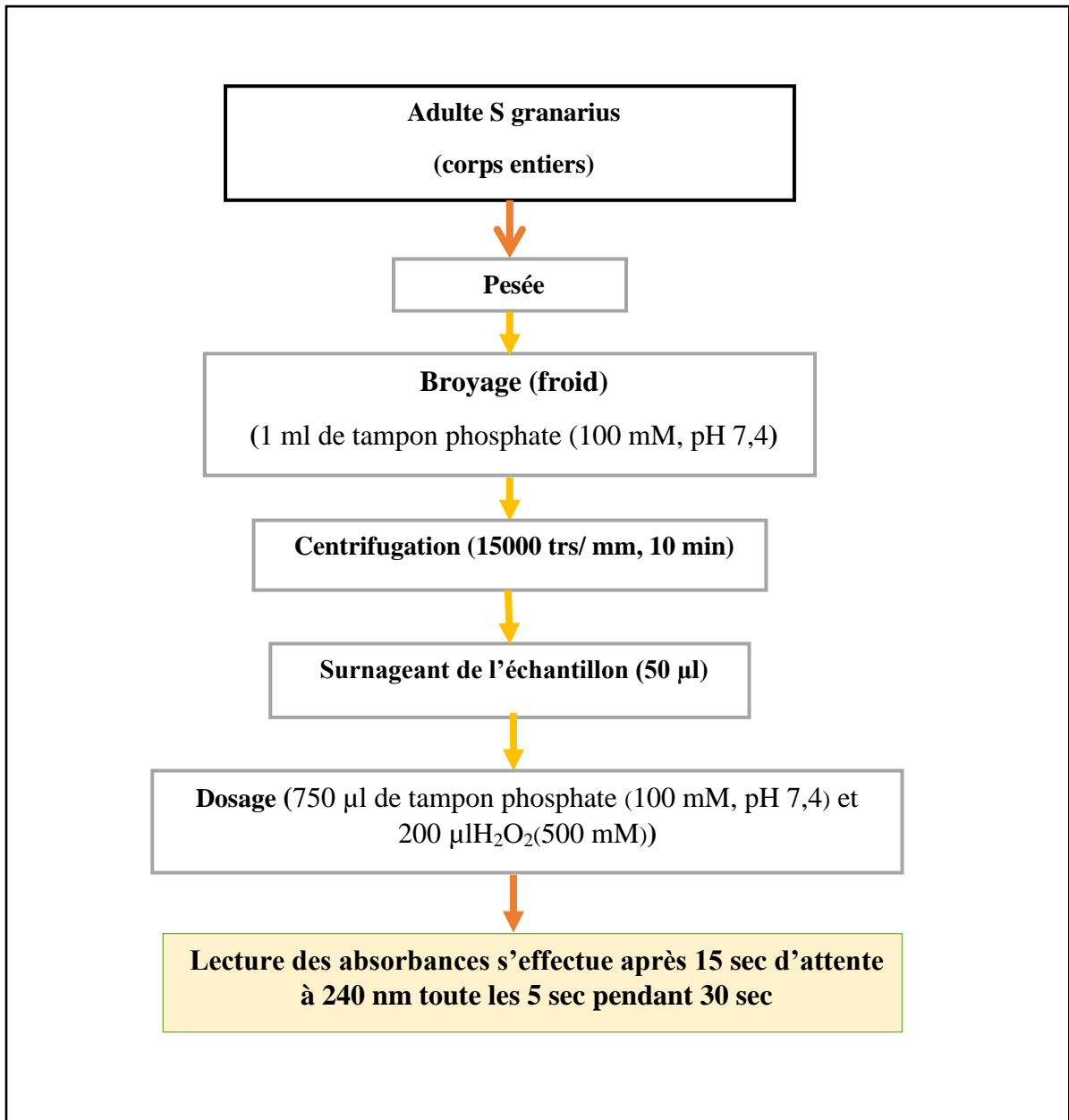


Figure 13: Extraction et dosage de la catalase (CAT)(Claiborne, 1935)

II.6. Analyse statistique

Les moyennes \pm SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test t de Student, l'analyse de la variance à un critère de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les échantillons pour toutes les expérimentations (MINITAB, version 2016).



Résultats

III. RESULTATS

III.1. Rendement en huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des feuilles de *C.limonum* de couleur vert, D'après le nettoyage, coupage en petits morceaux et les placées dans le congélateur. À la fin de la distillation, l'H.E recueillie par décantation est conservée à 4°C dans des petits flacons bien fermés en verre ombré. Le rendement enregistré est de l'ordre 0,98%.

III.2. Essais toxicologiques

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité de l'Azadirachtine et *Citrus limonum* évaluées à partir de la mortalité enregistrée chez les adultes de *Sitophilus granarius* à différentes périodes 24, 48, 72 heures après traitement.

III.2.1. Toxicité par fumigation

Les mortalités corrigées signalées à différentes périodes après traitement affichent des valeurs allant de 5% à 24h et 37.5% à 72h pour la concentration de 20 ppm jusqu'à 67.5% à 24h et 95% à 72h pour la forte concentration (400ppm). De plus, on note une augmentation du taux de mortalités corrigées en fonction des concentrations appliquées et le temps d'exposition.

Les concentrations sous létales et létales ainsi que le slope et le coefficient de détermination (R^2) ont été déterminées par le logiciel GRAPH PAD PRISM 6 et sont présentés dans le tableau 05 et la Figure 14.

Tableau 05 : Effet de l'AZAD et *C. limonum* appliqué par fumigation sur des adultes de *S.granarius* sur le taux des mortalités corrigées à différentes périodes (m \pm SEM, n=6 répétitions comportant chacune 10 individus)

Doses ppm	20	40	80	100	200	400
24 H	5 \pm 5	22.5 \pm 3.75	37.5 \pm 7.5	45 \pm 5	57.5 \pm 3.75	67.5 \pm 3.75
48 H	27.5 \pm 3.75	42.5 \pm 7.5	47.5 \pm 7.5	60 \pm 10	72.5 \pm 7.5	82.5 \pm 7.5
72 H	37.5 \pm 3.75	52.5 \pm 3.75	57.5 \pm 7.5	77.5 \pm 7.5	75 \pm 5	95 \pm 5

Tableau 06 : Efficacités l’AZAD et *C. limonum* appliqué sur les adultes de *S.granarius*: analyse des probits

AZAD et Citrus limonum	R ²	Slope	LC ₂₅ (ppm) FL (95%)	LC ₅₀ (ppm) FL (95%)	LC ₉₀ (ppm) FL (95%)
24	0.96	1.34	47.53 [30.54-74.13]	149.27 [109.64- 202.76]	1629.29 [633.86- 4187.93]
48	0.97	1.20	17.53 [10.91-28.11]	66.52 [52.48- 84.13]	160.69 [133.35- 193.19]
72	0.90	1.50	10.69 [3.62-28.11]	35.84 [22.23-64.26]	105.92 [63.82- 175.38]

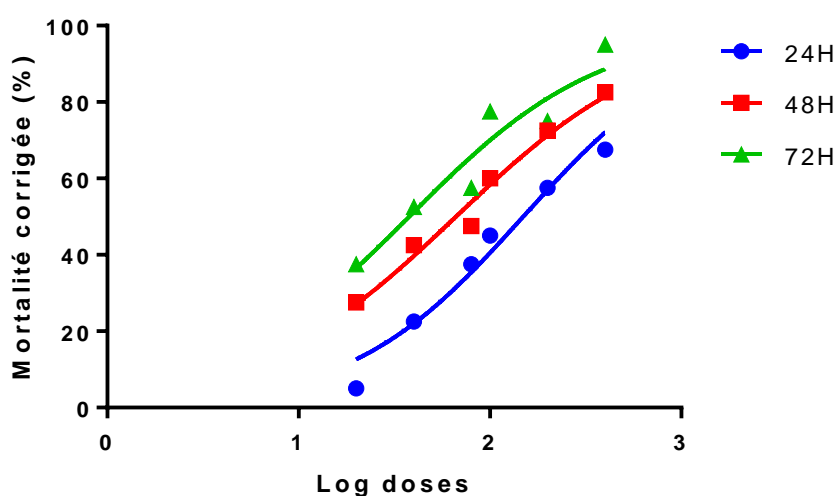


Figure 14: Effet l’AZAD et *C. limonum* par fumigation sur la mortalité corrigées chez les adultes du *S. granarius* différentes périodes (m ± SEM, n=6 répétition, comportant chacune 10 individus)

III.3. Effet de l’Azadirachtine et *Citrus limonum* combinée sur la composition biochimique de *Sitophilus granarius*

L’AZAD et *C. limonum* ont été appliqué par fumigation sur des adultes de *S.granarius* avec deux concentrations sous létales (CL₂₅ et CL₅₀). Ses effets ont été évalués sur la composition biochimique (Glucides, lipides, protéines) de cette espèce à 24h, 48h et 72h après traitements.

III.3.1. Contenu en glucides totaux

Les résultats révèlent une variation significative chez les séries témoins ($p=0,024$) et la dose CL₅₀ à 72 h (35,84 ppm) ($p=0,020$). Par contre, on note une variation non significative ($p>0,05$) de CL₂₅ à 72h (10.69 ppm) (Tableau 07 Figure 15).

La comparaison des valeurs moyenne montre une diminution non significative ($p>0,05$) à 24h chez les témoins avec la CL₅₀ et à 72h avec les deux concentrations (CL₂₅ et CL₅₀). Par contre, on note une augmentation significative à 24h chez les témoins avec la CL₂₅ ($p=0,006$) et à 48h avec la CL₂₅ ($p=0.009$) et la CL₅₀ ($p=0.004$).

Tableau 07 : Effet de l'AZAD et *C. limonum* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les adultes de *S.granarius* ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettres en majuscules : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, Lettre en minuscules : comparaison des moyennes dans un même temps entre les différentes séries)

Temps	Témoins	CL25	CL50
24h	86,1 \pm 1,67	68,78 \pm 1,9	39,53 \pm 6,27
48h	90,14 \pm 5,24	71,75 \pm 8,09	26,88 \pm 8,04
72h	145,5 \pm 20,84	80 \pm 9,88	24,5 \pm 16,1

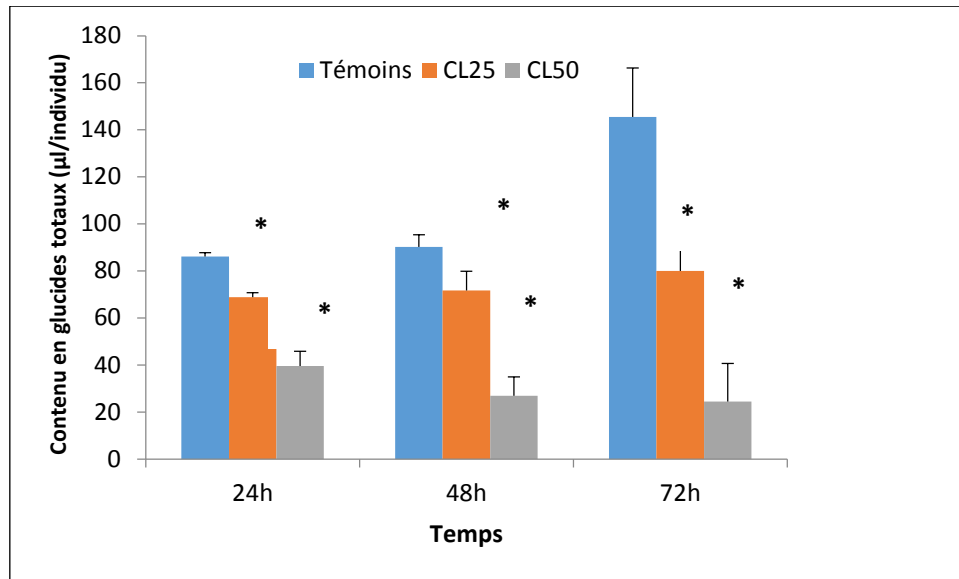


Figure15 : Effet de l'AZAD et *C. limonum* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les adultes de *S. granarius* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétition comportant chacune 10 individu). (NS : Différence non significative, *: Différence significative (p<0,05))

III.3.2. Contenu en protéines totales

Les résultats du dosage des protéines totaux sont mentionnés dans le tableau 08 et la figure 16. Il ressort de nos résultats une variation significative (P=0,016) de ce contenu que chez les témoins.

Le test *t* de Student révèle uniquement une diminution non significative (p>0,05) avec la dose la plus élevée à 48h. Par contre, on note une diminution significative avec la CL₂₅ dans les différents temps ; à 24h (p=0.10), à 48h (p=0.01) et à 72h (p=0.031). Et avec la CL₅₀ à 24h(p=0.011) et à 72h(p=0.03)

Tableau 08 : Effet de l'AZAD et *C. limonum* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez adultes de *S. granarius* au cours de différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettre majuscule : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, lettre minuscule : Comparaison des moyennes dans un même temps entre les différentes séries)

Temps	Témoins	CL25	CL50
24h	114.66±3.16a A	104.85±7.74 b A	135.4±8.38 c A
48h	76.13±6.03 a B	66.75±11.23 b A	73.23± 8.38 a A
72h	70.47± 3.33 a C	61.47±9.90b A	51.99±2.03c A

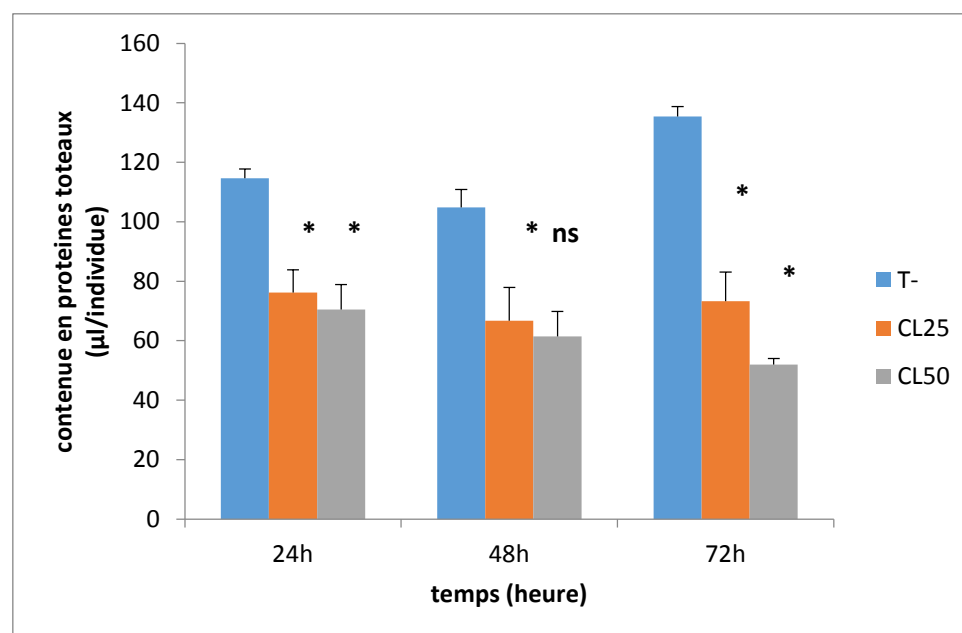


Figure 16 : Effet de l'AZAD et *C. limonum* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez adultes de *S. granarius* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétition, comportant chacune 10 individus). (ns : Différence non significative, * différence significative (p<0,05))

III.3.3. Contenu en lipide totaux

Les résultats du dosage sont présentés dans le tableau 09 et la Figure 17.

Nos résultats révèlent une variation non significative ($p > 0,05$) de ce contenu chez les traités dans les différents temps. Par contre, on note une augmentation significative chez la CL₂₅ ($p = 0,001$) et la CL₅₀ ($p = 0,003$).

La comparaison des valeurs moyennes révèle une augmentation significative chez les témoins par apports aux traités dans les différents temps ($p < 0,05$).

Tableau 09 : Effet de L'AZAD et *C. limonum* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les adultes de *S. granarius* cours de différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettre majuscules : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, lettre minuscule : Comparaison des moyennes un même temps entre les différentes série)

Temps	Témoins	CL25	CL50
24h	36.78±3.81 a A	37.05±4.78 b A	34.96±2.93 c A
48h	67.77±3.75 a A	76.42±0.79 b B	94.08± 3.38 c B
72h	96.11 ± 9.73 a A	79.52±1.66 b C	118.65±1.69 c C

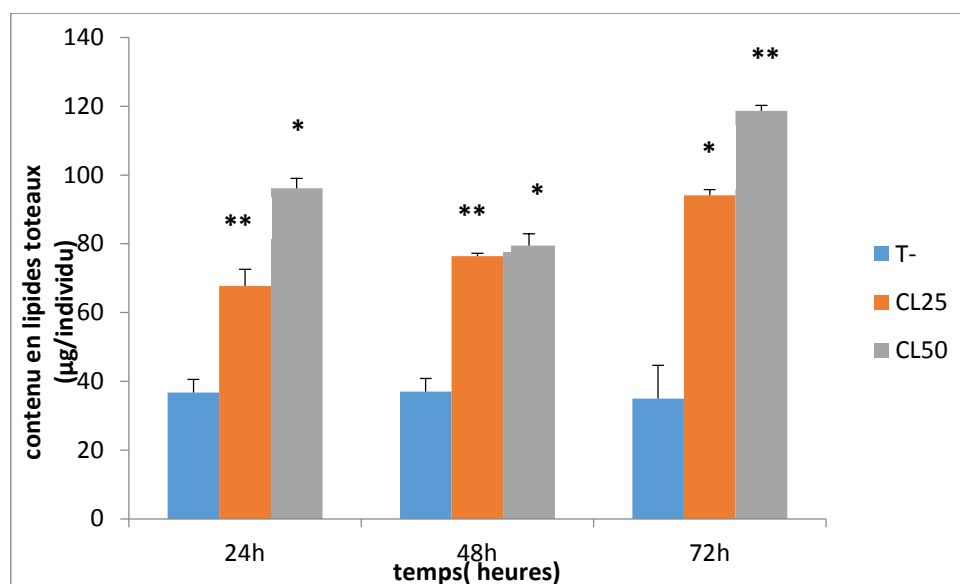


Figure 17 : Effet de l'AZAD et *C. limonum* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les adultes de *S. granarius* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétition, comportant chacune 10 individus). (NS : Différence non significative, * : Différence significative (p<0,05), ** : Différence hautement significative (p<0,001))

III.4. Effet des H.E extraites de *C. limonum* et l'AZAD combinée sur les biomarqueurs:

Les huiles essentielles extraites de *C. limonum* et l'AZAD testé par fumigation avec la CL25 et la CL50 ont été évaluées sur les biomarqueurs enzymatiques (GSTs et Catalase) et non enzymatiques (GSH) à différentes périodes après traitement (24, 48 et 72h).

III.4.1. Effet sur l'activité spécifique de GSTs:

L'activité spécifique des glutathion-S-transférases a été estimée chez les séries témoins et traitées selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines (µM/min/mg de protéines).

Ils sont mentionnés dans le tableau 10 et la figure 18, où on observe une variation significative (p=0.003) de l'activité spécifique des GSTs uniquement chez les séries traités CL₂₅.

Le test *t* de Student révèle une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs chez les témoins par rapport les deux concentrations dans les différents temps.

Tableau 10 : Effet des H.E de *C. limonum* et l'AZAD(CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéine) chez les adultes de *S. granarius* au cours de différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus).(Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)

Temps	Témoin	CL25	CL50
24h	18.869±0.075a A	21.814±0.029b A	28.869±0.375c A
48h	18.270±0.184a A	23.551±0.444b B	28.270±0.184c A
72h	18.153±0.084a A	25.774±0.916b C	29.079±0.229c A

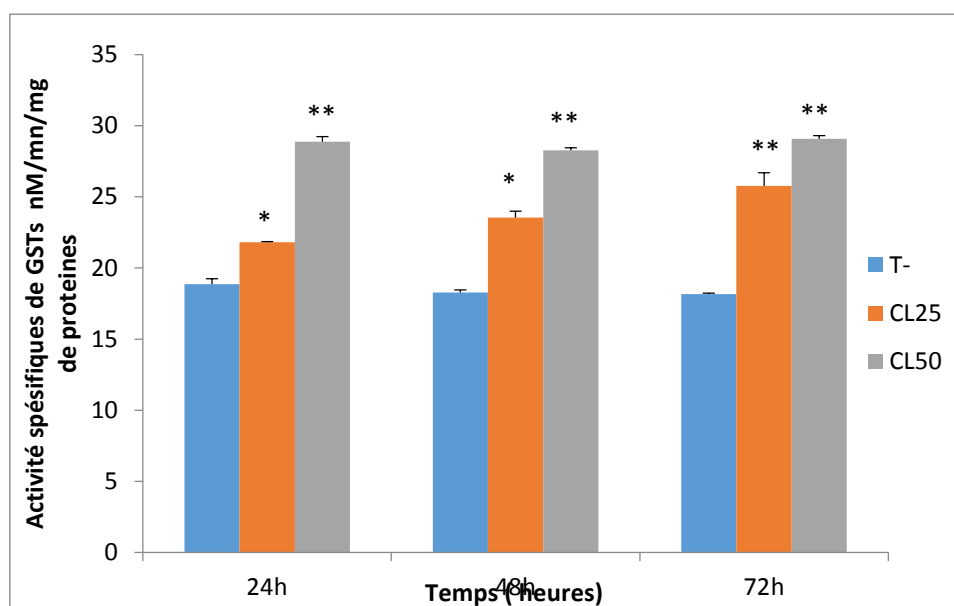


Figure 18: Effets des H.E extraites de *C.limonum* et l'azad(CL₂₅ et CL₅₀), sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéine) chez les adultes de *S. granarius* à différentes périodes (m ± sem, n=3). (ns:Différence significative (p>0,05), *: Différence significative (p<0,05); **: Différence hautement significative (p<0,01)

III.4.2. Effet sur le taux du glutathion

Le taux du glutathion ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines) a été estimé chez les séries témoins et traitées (CL₂₅ et CL₅₀) selon la méthode de Weckberker et Cory (1988). Les résultats sont exprimés en nanomoles par milligramme de protéines (nM/ mg de protéines).

D'après le tableau 11 et la figure 19, on observe une variation significative de l'activité spécifique des GSH chez les séries témoins et avec les deux concentrations.

Le test *t* de Student montre une diminution significative du taux du glutathion qu'avec la dose la plus élevée à 24h ($p=0.031$) et à 48h ($p=0.05$).

Tableau 11: Effet des H.E (CL₂₅ et CL₅₀) extraites de *C. limonum* sur et l'AZAD sur le taux du glutathion (nM/mg de protéines) chez adultes de *S. granarius* au cours de différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))

Temps	Témoins	CL25	CL50
24h	55.52±3.33a A	48.21±1.41a A	38.84±0.54b A
48h	55.90±1.76a B	47.38±1.42a B	34.43±0,21b B
72h	54.65±7.26a C	38.84±2.14a C	34.94±0,43a C

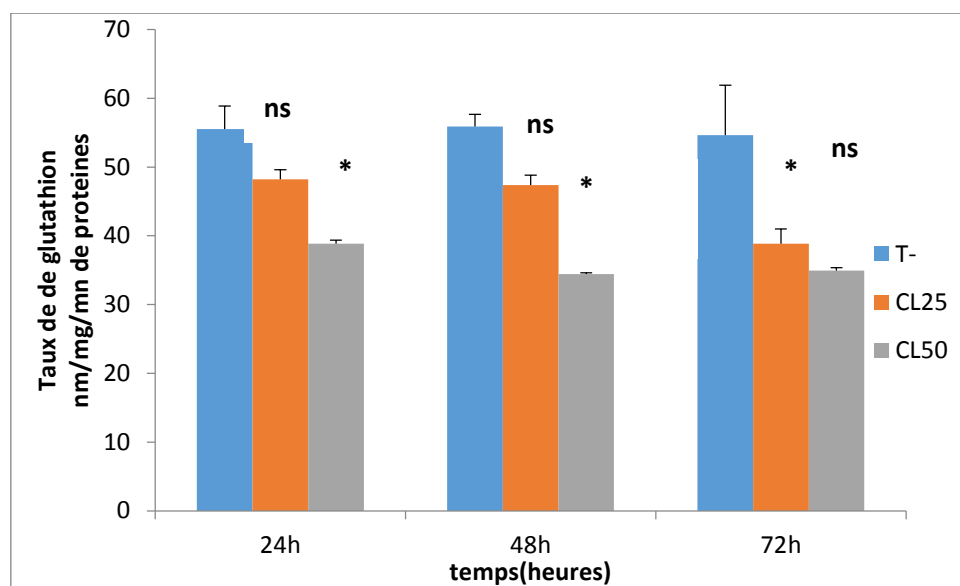


Figure 19: Effets des H.E extraites de *C.limonum* et l'azad (CL₂₅ et CL₅₀), sur le taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les adultes de *S. granarius* à différentes périodes ($m \pm \text{sem}$, $n=3$). (ns:Différence significative ($p>0,05$), *: Différence significative ($p<0,05$))

III.4.3. Effet sur l'activité spécifique de la catalase

L'activité de la catalase a été estimée chez les séries témoins et traitées d'après la méthode de Claiborne (1935). Les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéine ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines). Ils montrent une variation non significative ($p>0,05$), les séries témoins avec les deux concentrations (Tableau 12 et Figure 20).

La comparaison des valeurs moyennes révèle une évaluation non significative uniquement chez les témoins avec la dose CL₂₅ à 24h.

Tableau 12: Effets des H.E extraites de *C.limonum* et l'azad(CL₂₅ et CL₅₀)sur l'activité spécifique de la catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les adultes de *S. granarius* à différentes périodes ($m \pm \text{sem}$, $n=3$). (ns: Différence significative ($p>0,05$), *: Différence significative ($p<0,05$). des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))

Temps	Témoins	CL25	CL50
24h	35,69± 1,71a A	42,22±1,80a A	46,37±0,90b A
48h	35,86±1,00a A	44,33±2,65b A	47,26±0,08c A
72h	36,62±1,61a A	44,52±2,24b A	47,88±0,91c A

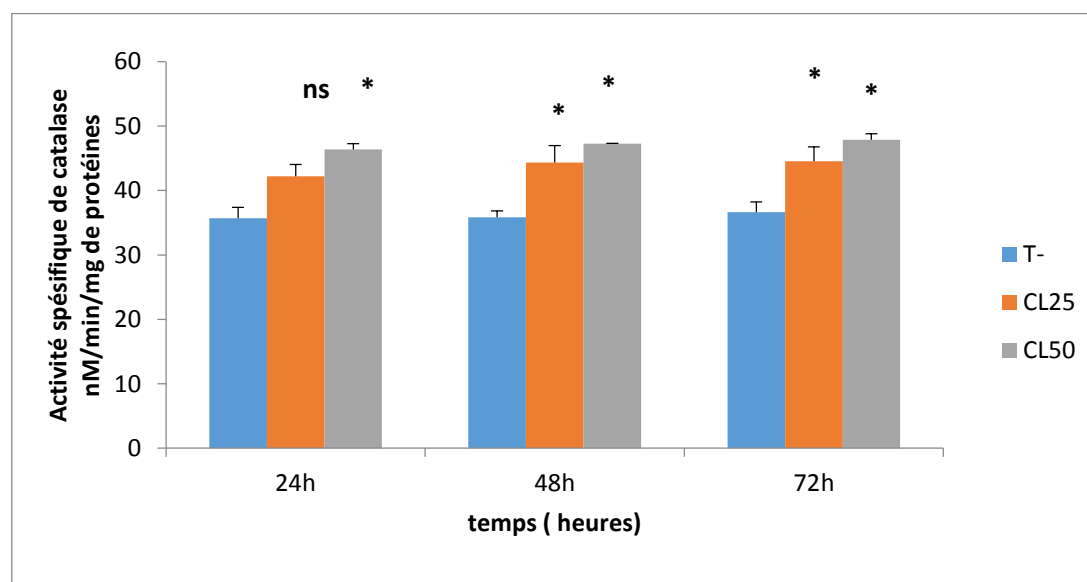


Figure 20 : Effets des H.E extraites de *C.limonum* et l'azad (CL₂₅ et CL₅₀), sur l'activité spécifique de la catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les adultes de *S. granarius* à différentes périodes ($m \pm \text{sem}$, $n=3$). (ns: Différence significative ($p>0,05$), *: Différence significative ($p<0,05$))



Discussion

IV. DISCUSSION

IV.1. Rendement en huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des feuilles de *C.limonum* de couleur vert, D'après le nettoyage, coupage en petits morceaux et les placées dans le congélateur pendant un mois. Le rendement enregistré est de l'ordre 0,98%.

Le rendement en huiles essentielles varie d'une espèce à une autre. Les espèces du genre de *C.limonum* présentent un rendement de 0.94% (Ben Khedim K et DJEDOUANI H, 2017), et de 0,89% chez *Citrus limon* (Kehal F, 2013).

De plus, les rendements élevés ont été enregistrés chez d'autres espèces telles que *les graines de Cuminum Cyminin* (4.16%) (Negahban M *et al.*, 2012), *Elettaria. Cardamomun* (4-7%) (Abbasipour H *et al.*, 2012), *Laurus nobilis* (5,94%-10,38%) (Bouderhem A, 2015).

Et les rendements diminués ont été enregistrés chez d'autres espèces telles que, *Ocimum gratissimum*(1.24%) et *Cymbopogon nardus* (1.25-2.5%)(Ouedraogo Iet *al.*, 2016), et *Thymus vulgaris* (1,58%) (Bouguerra N *et al.*, 2017), *Perovskia abrotanoides* (2.41%) (Arabil F, 2008), *Artemisia khorassanisa* (1%) (Borzoui E *et al.*, 2016).

Cette variabilité dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine géographique, période de récolte, durée de séchage, température et technique d'extraction (Svoboda K P et Hampson J B, 1999; Smallfied B, 2001).

IV.2. Toxicité de l'AZAD et *C. limonum* combinée à l'égard des adultes de *S. granarius*

La toxicologie traite L'étude de la composition chimique et les effets des substances toxiques et a pour but de montrer l'activité de l'insecticide et la relation entre les éléments actifs sur l'insecte et ainsi évaluer les concentrations létales (CL₂₅ CL₅₀).

Les huiles essentielles ou les propriétés insecticides des plantes aromatiques peuvent principalement dériver des métabolites secondaires (Patrick N A *et al.*, 2016).

Ces huiles essentielles et leurs composants sont connus pour posséder des activités antioxydantes (Caillet S et Lacroix M, 2007), Ils agissent directement sur la cuticule des insectes (Isman M, 1999).

Le but essentiel de cette étude est de tester la toxicité par fumigation des huiles essentielles extraites de *C. limonum* et l'AZAD à l'égard de *S. granarius*,

Les résultats montrent un pouvoir toxique contre les adultes de *S. granarius* avec une réaction dose-réponse. Ces résultats montrent une augmentation des pourcentages de mortalité de même les valeurs des CL₂₅, CL₅₀ augmente en fonction du temps.

Les résultats obtenus suite à l'application des huiles essentielles extraites *C. sinens var. hamlin* sur les *T. castaneum*, *S. granarius* et *C. maculatus* affiche une CL₅₀ très élevées qui est de 931,28 -367,75 et 223,48 µl/L respectivement à 24h et 362,40 -20,45 -207,17 µl/l respectivement à 48h, et le *M. pulegium* était plus forts que *C. sinens var. hamlin* sur *S. granarius* et *Z. multiflora* et *R. officinalis* sur l'adultes de *P. interpunctella* ces huiles montrent bonne toxicité par fumigation sur les organismes nuisibles aux produits entreposés (Mohammoud vand M *et al.*, 2016), tandis que l'huile de *E. camaldulensis* était plus toxique contre *E. cautella* et *E. kuehnila* et les valeurs de CL₅₀ 11,07 et 26,73 ml/l d'air à 46h, et chez les espèce *E. ceratoniae* l'huile d'*E. rudis* était plus efficace avec le valeur de CL₅₀ 31,4ml/l d'air a 36h (Jouda mediouni Ben Jemàa *et al.*, 2016).

De plus, les essais toxicologiques réalisés au niveau du laboratoire ont mis en évidence des variations des effets des huiles de *C. nardus* et de *O. gratissimum* contre les *S. zeamais* et *R. dominica*. Ces résultats montrent que le taux de mortalité dus aux deux huiles atteint 100% en fonction de l'espèce d'insecte (Ouedraogo I *et al.*, 2016). Les effets toxiques des nano-capsules ont été évalués contre *Tribolium castaneum* et les valeurs de CL₅₀ 16,25 ppm étaient très efficaces plus que le *Cuminum Cyminum* pure CL₅₀ 32,12 ppm (Negahban M *et al.*, 2012).

Cependant d'autres huiles tel que herba- alba était plus toxique sur *T. granarium* CL₅₀ 2,09mg/ml et *T. castaneum* CL₅₀ 6,39 mg/ml (Ben slimane et Baouindi, 2016), les adultes de *S. granarius* étaient plus sensible à l'huile de *C. copticum* CL₅₀ 0,009 ug/mg que *C. cyminum* CL₅₀ 0,016ug/mg. En général, *T. confusum* à une sensibilité similaire aux deux huiles essentielles. Cependant les adultes de *T. confusum* étaient plus résistants que *S. granarius* (Masumeh Z, 2014). Une mortalité de 100% des adultes de *T. castaneum* a été enregistrée avec l'huile de *P. anisum*.

IV.3. Effet sur la Composition biochimique

Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses, au cours du développement (larve, puppe, adulte) effectivement ces variations sont liées aux différents états physiologiques de l'insecte comme la mue, la nymphose et la diapause (Nowosielski Patton 1965)

L'étude des résultats concernant la partie biochimique a *S. granarius* traitées aux huiles essentielles de *C. limonum* et l'AZAD.

Dans toutes les espèces biologiques, les protéines jouent un rôle décisif dans l'organisme, en effet les protéines et les acides aminés ont un rôle crucial durant les différentes phases de leur vie car ils sont par des niveaux très élevés.

Durant notre recherche, on a pu constater une diminution non significative des protéines totales chez les adultes de charançon du blé de *S. granarius* traitées aux huiles essentielles extraites de *C. limonum* et l'AZAD.

Ces résultats sont similaires aux travaux fait par Borzouiet *al.* (2016) ont montré une diminution du contenu en protéines chez *Plodia interpunctella* traitée aux huiles essentielles d'*Artemisia Khorassanica* et *Vitex pseudo-negundo*.

Ahmed *et al.* (2012) rapportent que l'AZAD interfère ou bloque certaines voies nécessaires pour la synthèse de l'ARN ou même un impact direct sur celui-ci. L'AZAD inhibe la synthèse des protéines dans plusieurs types de tissu via des enzymes telles que les trypsines de l'intestin moyen (Timmins et Reynolds, 1992), les 20 hydroxy-monoxygénases du corps gras (Mordue *et al.*, 2005) et les enzymes de détoxification (Lowery et Smirle, 2000).

Par contre les travaux de (Tine, 2009) ont montré une augmentation du contenu en protéines chez *Cx pipiens* et *Cs longiareolata* faite avec la méthoxyfénoljide et halofénoljide et traités avec le spiromesifen (Bouabida *et al.*, 2016)

Des perturbations chez *Cx pipiens* et *Cs longiareolata* traités à l'*ocimum basilicum* ont été mises en évidence après des expérimentations menées au niveau de notre laboratoire dans le but de tester les effets HE sur les réserves énergétiques des moustiques (bouzidi et ziani 2015)

Les glucides forment un groupe de composés très importants, ils sont présentés sous source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose) soit sous forme de réserves (glycogènes); d'autres ont un rôle structural (Cellulose chitine, acide, hyaluronique), le tréhalose dans le tissu et le taux de glycogène sont liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue et la reproduction (Wiens et Gilbert, 1967)

Les résultats obtenus au cours de notre travail montrent une diminution progressive de glucides chez les séries traitées et les témoins.

Ces tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il a un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steel, 1981) et forme une source énergétique essentielle en libérant le glucose sous l'action d'une enzyme, sa concentration dans l'hémolymphe est déterminée par la vitesse de deux processus : son stockage dans le corps gras et son retrait pour les besoins énergétiques de l'insecte (Wyatt, 1967)

Ceci concorde avec les résultats obtenus par (Benkhedime, 2017) qui a utilisé les huiles essentielles de *C.limonum* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*, de même le travail fait par Hlaimia (2017) qui a appliqué l'azad sur *R.dominica*. Concernant les travaux de Bouzidi et Ziani (2015), à l'égard de *C. longiareolata* par l'ocimum basilicum ainsi que *C. pipiens* par *Laurus nobilis* (Attia et Kouider, 2016) n'ont montré aucun effet sur ce contenu biochimique.

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes, transportés aux corps gras, site de leur synthèse et stockage (Keely, 1985; Van Hensdan et Law, 1989) vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (Kilby, 1963; Chino *et al.*, 1981), via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitellogénèse (Downer, 1985; Keely, 1985).

une augmentation significative a été notée chez les séries traitées avec les deux concentrations (CL_{25} , CL_{50}) au cours de la période testée (24, 48 et 72h).

Plusieurs études ont démontrées que les triglycérides, dont le corps gras est le site majeur de stockage chez les insectes, sont une réserve métabolique importante.

Les travaux de (Benkhedime, 2017) ont été fait sur le traitement par *Citrus* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*, et les travaux fait sur l'effet de l'AZAD à l'égard de *R.dominica* (Hlaimia, 2017)

D'ailleurs, Borzaoui et al(2016) confirment le fait que les huiles essentielles extraites de *A khorassanico* et *V. pseudoneguudo* affectent le contenu en lipides chez la larve du quatrième stade de *p.interpunctella*.

Plusieurs plantes ont été testées sur diverses classes d'insectes comme les *clucidae*, en effet cette application des huiles essentielles à fait apparaitre des perturbations par *lavandula deutata*(Sahbi et Aouini, 2015) et *C_s longiareolata* faite par *l'accumu basilicin* (Bouzidi et ziani, 2015)

En 1990 brigel a démontré que les moustiques femelles avec un grand volume corporel synthétisent plus de lipide que les petites femelles, Néanmoins les études de Van Handel (1984) ont démontré que l'oxydation des lipides fournis les besoins énergétiques dans l'absence de repas sanguin.

Chez *Tribolium confusum* (Beaudoin et Lemonde, 1970), les résultats montrent que la concentration des acides gras est maximum au stade larvaire ainsi qu'au stade adulte. C'est en effet à ces deux âges que l'activité métabolique est la plus intense, en plus du métabolisme basal chez la larve, il y a une activité locomotrice; chez l'adulte il y a activité locomotrice et maturité sexuelle.

En conclusion, on peut suggérer que les perturbations notées dans la composition biochimique de *S. granarius* sont probablement liées à des interactions avec l'action des huiles essentielles qui interfèrent avec les voies métaboliques.

IV.4. Effet sur les biomarqueurs

La lutte chimique contre les organismes nuisibles (rongeurs, arthropodes vecteurs de maladies ou destructeurs de récoltes) se traduit invariablement par la sélection d'individus résistants, c'est à dire capable de survivre et de se reproduire malgré la présence dans leur environnement de composés toxiques pouvant tuer des individus dits sensibles (Magnin *et al.*, 1985). Les marqueurs biologiques ou biomarqueurs vont concerner l'étude des changements physiologiques, biochimiques, moléculaires ou comportementaux révélant l'exposition présente ou passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier pour mettre en évidence l'exposition à ou les effets d'un ou plusieurs contaminants.

Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, les glutathion-S-transférases.

Plus de 500 espèces d'arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide ou larvicide. Un petit nombre de mécanismes sont capable de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Ces mécanismes sont généralement classés en trois catégories:

Le premier est dû à une diminution de la pénétration cuticulaire qui est un mécanisme de résistance de moindre importance mais augmenter le niveau de résistance (George, 1994; Pasteur et Reymond, 1996; Taylor et Feyereison, 1996).

Le deuxième mécanisme, assure une bonne détoxification des différents tissus de l'organisme, est lié à une augmentation du taux des diverses enzymes de détoxification (Soderlund, 1997) telles que les monooxygénases à cytochrome P450 (Scott, 1999), l'estérase (Field *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 1999; Harold et Ottea, 2000), la glutathion-S-transférase (Parapanthadara *et al.*, 2000; Yu et Abo-Elghar, 2000; Sun *et al.*, 2001), et la lactate déshydrogénase (Saleem et Shakoori, 1987; Ribeiro *et al.*, 1999).

Enfin, le troisième mécanisme, aussi important que le second, traite de l'altération des sites cibles telle que les canaux sodium, les récepteurs GABA et surtout une enzyme du système nerveux, l'acétylcholinestérase et leur insensibilité aux insecticides. (Rufingier *et al.*, 1999; Tomita *et al.*, 2000; Siegfried et Scharf, 2001)

IV.4.1. Effet sur glutathion-s-transférase

Le glutathion-S-transférase (GST) représente une famille multi génique d'enzymes qui jouent un rôle important dans la protection des tissus contre les éventuels composés toxiques et cancérigènes d'origine exogènes et endogènes (Vlaykova *et al.*, 2008 ; Sun *et al.*, 2001) . Ce sont des isoenzymes de la phase II du mécanisme de détoxification, catalysant la conjugaison du glutathion avec plusieurs composés électrophiles (Banrjee et Goswami, 2010). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules des corps gras et des muscles alaires (Franciosa et Bergé, 1995).

L'activité spécifique de la GST chez les adultes traités de *C.limonum* et l'AZAD marqué une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs chez les séries traitées (CL₂₅, CL₅₀) comparativement aux séries témoins durant la période testée (24, 48 et 72h).

Nos résultats sont en accord avec les travaux trouvant que l'activité spécifique de la GSTs est en augmentation, comme chez les adultes de *R.dominica* traités par l'azad (Chachoui et Halaimia, 2017), chez les adultes de *Blattella germanica* traités avec l'azadirachtine (Tine, 2013) ou encore chez les larves de *H.armigera* (Lepidoptère) traités avec l'Huile de Neem (War *et al.*, 2014) , chez les larves de *Xanthogalerucaluteola* (Coléoptère) traités avec l'Achook (Valizadeh *et al.*, 2013), *Culex pipien* traité par l'*Ocimum basilicum* (Sayada & Messai, 2015), *Lavanduladentata* (Gheraibia & Abaidia, 2014) et *Laurusnobilis* (Attia et Kouider, 2016), et chez *Cs longiareolata* traitée par *Menthapiperita* (Chettat, 2013), *Ocimum basilicum* (Kemache & Meziani, 2015) et *L.dentata* (Gouasmia & Bouchagoura, 2013). Cette observation a été également signalée chez *B. germanica* traitée par l'acide borique (Habeset *et al.*, 2006), un pyréthrianoïde, la cyperméthrine (Valles *et al.*, 2000), l'azadirachtine (Saci, 2006), l'acétamipride et le benfuracarbe (Morakchi, 2002), le spinosad (Meghlaoui & Mansouri, 2010), mais aussi par le propoxur (Valles *et al.*, 1999 ; Lee *et al.*, 2000).

En revanche nos résultats sont contre les travaux ceux qui obtenus chez (Ahmed et Wilkins, 2002) qui a eu une diminution significative dans l'activité de la GST chez la mouche domestique *Musca domestica*, traitée au fenitrothion. Chez les larves de *Chironomus tentans* traités par un herbicide et un insecticide organophosphoré provoque la réduction de l'activité de la GST (Kun *et al.*, 2007).

IV.4.2. Effet sur le Glutathion

Bien que le glutathion ait été découvert en 1888, ce n'est que dans les années 1970 que son rôle détoxiquant a été reconnu. Il joue un rôle critique non seulement chez les humains et les mammifères, mais chez tous les vertébrés, insectes, plantes et micro-organismes (Bonus *et Gold*, 1991). C'est l'une des plus abondantes petites molécules non protéiques thiols dans les tissus des mammifères, en particulier dans le foie (Zhu Hong Mei *et al.*, 2011).

Le glutathion est un tripeptide non-protéique soluble dans l'eau constitué de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine (L- γ -glutamyl-L cysteinyl glycine), produite naturellement dans le corps (Meister & Anderson, 1983), que l'on trouve en concentration

assez élevée (1-10 mM) dans presque toutes les cellules vivantes (animaux, végétaux et humaines) (Gauthier, 1997 ; Barbaro *et al.*, 1997).

Le glutathion est un biomarqueur non-enzymatique joue un rôle central dans le processus de défense intracellulaire. C'est le principal système impliqué dans la détoxification des ions peroxyde et dans la lutte contre le stress oxydatif (Gannagé-Yared *et al.*, 1998). Une déficience du GSH provoque un risque de dégâts oxydatifs pour la cellule se traduisant par des troubles pathologiques tels que le cancer, les désordres neuro-dégénératifs et les fibroses cystiques (Townsend *et al.*, 2003).

Notre étude révèle une diminution progressive du taux de GSH chez les adulte de charançon du blé *S. granarius* traités de *C. limonum* et l'AZADe à la (CL₂₅ et CL₅₀) de 24h jusqu'à 72h.

Plusieurs travaux obtenus sont accordés avec nos résultats, aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et l'administration des molécules exogènes. Les expérimentations menées dans notre laboratoire ont mis en évidence une diminution du taux de la GSH chez *Culiseta longiareolata* traitée par *C. limonum* (Benkhedime, 2016), *Cs longiareolata* traitée par *Mentha piperita* (Chettat, 2013), chez *Cx pipiens* (Sayada et Messai, 2015) et *Culiseta longiareolata* (Kemache et Meziani 2015) traités par l'*Ocimum basilicum*. et chez Meghlaoui et Mansouri, (2010), ont rapporté également une diminution significative du taux de GSH chez les adultes de *B. germanica* traités par le spinosad. Des résultats similaires ont été observés chez *D. trunculus* exposés aux polluants environnementaux (Sifi, 2006), chez *Galleria mellonella* traitée par le malathion (Buyukguzel, 2009), et *Eurytemora affinis* traitée au cadmium (Souissi *et al.*, 2008). Outre, le stress oxydatif par l'arsenic conduit à une diminution du taux de GSH chez *S. cerevisiae* (Todorova, 2007). La diminution du GSH pourrait être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier l'organisme. De plus, cette diminution de la GSH traduit également une réduction du système antioxydant non enzymatique.

IV.4.3. Effet sur l'activité spécifique de la Catalase

Les catalases sont des hémoprotéines tétramériques qui, avec un atome de fer par sous-unité, ont une masse d'environ 240 KDa. Elles catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire. Les catalases sont des enzymes peroxysomales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (H_2O_2). Les catalases sont présentes dans tout le règne animal et se retrouvent aussi chez les végétaux. Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, PCB ou certains pesticides (Livingstone, 1992) et les métaux (Labrot *et al.*, 1996). Cependant, les résultats sont parfois contradictoires *in vivo*, certains auteurs montrent une induction de l'activité de la catalase (Di Giulio *et al.*, 1993).

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité de la catalase chez les adultes de Le charançon du blé *S. granarius* traitée par les huiles essentielles de *C. limonum* et l'AZAD à deux concentrations létales: CL_{25} et CL_{50} et aux différents temps: 24, 48, 72 heures, révèle une augmentation significative.

Cette augmentation de l'activité traduit une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide (Clark, 1989). Les principaux systèmes de défense antioxydante ont été mis en évidence chez les invertébrés aquatiques (Winston et Di Giulio, 1991; Lemaire, 1993), en particulier, chez la moule *Mytilus edulis*. L'augmentation de l'activité de la catalase a déjà été révélée chez des poissons et des bivalves exposés à des polluants organiques (HAP, PCB, pesticides et engrais chimiques) (Cossu *et al.*, 1997).



Conclusion

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les pesticides qui ont été utilisés sur les produits agricoles à fin d'éliminer les insectes nuisibles et avoir une bonne qualité de produits, ont causé de grands problèmes de santé et des dégâts sur le plan environnementale. Ce qui nous a fait penser de changer les produits chimiques par d'autres qui sont naturels qui nuisent pas l'environnement.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez une espèce de *S. granarius*, l'effet d'AZAD et *C. limonum* sur la toxicité (par fumigation), la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) et d'activité spécifique de quelques biomarqueurs enzymatiques et non enzymatiques catalase (CAT), glutathion S-transférases (GSTs) et cofacteur, la glutathion (GSH).

L'effet des huiles essentielles de *C. limonum* et d'AZAD sur la toxicité (par fumigation) et aussi la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) et aux plus l'activité spécifique de trois biomarqueurs ; Catalase (CAT), Glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, la glutathion (GSH).

L'utilisation des huiles essentielles de *C. limonum* et l'Azad sur l'insecte ravageur *S. granarius* a permis d'établir les concentrations létales la Cl_{25} (10.69 ppm) et la Cl_{50} (35.84 ppm). Ces huiles montrent une activité insecticide avec une relation dose-réponse et la période testée (24h-48h-72h).

L'évaluation des biomarqueurs indique que ces huiles présentent une augmentation du taux de la Catalase comparativement aux témoins, cette élévation est due à la mise en place d'un système de détoxification est en plus, provoque une réduction du taux de la GSH, donc il induit l'activation du système de détoxification par le biais d'une augmentation significative de l'activité des GSTs, mettant en évidence la mise en place d'un mécanisme de détoxification.

Enfin ces résultats par une étude électrophorétique des protéines, glucides, lipides et l'ensemble des résultats acquis confirment l'effet de l'Azad et le *C. limonum* sur les biomarqueurs du stress oxydatif.

Par ailleurs en évaluant le pouvoir anti appétant de ce produit en déterminant la qualité de nourriture ingérée et en dosant le différent enzyme digestives. Et afin de synthétisée un biopesticide vitale et mortel au même temps.



Résumé

RESUME

L'objectif fondamental de ce travail est vise à tester l'effet des huiles essentielles extraites de *Citrus limonum* et l'Azadirachtine à l'égard d'un coléoptère ravageur et qui cause des dégâts majeurs au niveau des céréales en Algérie, Plusieurs aspects ont été étudiés:

- ❖ **Aspect toxicologique:** a permis d'établir les concentrations létales des huiles essentielles de *C.limonum*, et de l'AZAD qui est appliqués par fumigation contre les ravageurs *S. granarius* à différentes périodes. Le produit révèle un effet toxique avec une relation dose-réponse

- ❖ **Aspect biochimique :** a permis de déterminer les variations des réserves métaboliques (Glucides, lipides et protéines) en fonction du traitement par fumigation avec les deux concentrations sous létales CL 25 (10,69 ppm) et CL 50 (35,84 ppm) Le produit affecte relativement ces paramètres biochimiques au cours de la période testée (24h, 48h et 72h).

- ❖ **Biomarqueurs:** une séries d'expérience a permis d'évaluer les effets des H.E de *C.limonum*, et de l'AZAD sur les biomarqueurs enzymatiques (GSTs et catalase) et non enzymatique (GSH) chez les ravageurs *S. granarius*. Qui a provoqué une induction du système de détoxification et une augmentation de l'activité spécifique des GSTs et de la catalase et une diminution du taux de glutathion. Au cours de la période testée.

Mots clés: *Sitophilus granarius*, huiles essentielles, *Citrus limonum*, AZAD, toxicité, fumigation, biochimie, biomarqueurs.

ABSTRACT

The fundamental objective of this work is to test the effect of essential oils extracted from *Citrus limonum* and Azadirachtin with respect to a devastating beetle and which causes major damage to cereals in Algeria. been studied:

- ❖ Toxicological aspect: established the lethal concentrations of essential oils of *C.limonum*, and AZAD which are fumigated against *S. granarius* pests at different times. The product reveals a toxic effect with a dose-response relationship.

- ❖ Biochemical aspect: allowed to determine the variations of the metabolic reserves (Carbohydrates, lipids and proteins) depending on the fumigation treatment with both concentrations below lethal CL 25 (10,69 ppm) and CL 50 (35,84 ppm) The product affects these biochemical parameters relatively during the test period (24h, 48h and 72h).

- ❖ Biomarkers: A series of experiments evaluated the effects of *C.limonum* H.E. and AZAD on enzymatic (GSTs and catalase) and non-enzymatic (GSH) biomarkers in *S. granarius* pests. This caused an induction of the detoxification system and an increase in the specific activity of GSTs and catalase and a decrease in the rate of glutathione. During the period tested

Key words: *Sitophilus granarius*, essential oils, Citrus limonum, AZAD toxicity, fumigation, biochemistry, biomarkers

المخلص

الهدف الأساسي من هذا العمل هو اختبار تأثير الزيوت الأساسية المستخلصة من *Citrus limonum* و Azadirachtine ضد انواع ثاقبات الحبوب الصغرى والتي تسبب أضرارا كبيرة. على مستوى الحبوب في الجزائر ، تمت دراسة عدة جوانب:

- ❖ الجانب السمي: قد حددت تركيزات قاتلة من الزيوت الأساسية من ليمون الحمضيات و مبيد Azadirachtine التي يتم تطبيقها عن طريق التبخير *Sitophilus granarius* في فترات مختلفة. يكشف المنتج عن تأثير سام مع علاقة الجرعة والاستجابة
- ❖ الجانب البيوكيميائي: يسمح بتحديد الاختلافات في احتياطات الأيض (الكربوهيدرات والدهون والبروتينات) اعتماداً على معالجة التبخير بكلا التركيزات (CL_{25} و LC_{50}). يؤثر المنتج على هذه المعايير البيوكيميائية نسبياً خلال فترة الاختبار (24، 48 و 72 ساعة).
- ❖ المؤشرات الحيوية: قامت سلسلة من التجارب بتقييم تأثيرات من الزيوت الأساسية من ليمون الحمضيات و مبيد Azadirachtine على الأنزيمات (GSTs و الكاتلاز) والمؤشرات الحيوية غير الأنزيمية (GSH) في آفات *Sitophilus granarius*. مما تسبب في تحريض نظام إزالة السموم وزيادة في نشاط معين من GSTs و الكاتلاز وانخفاض في معدل الجلوتاثيون. خلال الفترة التي تم اختبارها.

الكلمات المفتاحية: *Sitophilus granarius* ، الزيوت العطرية ، *Citrus limonum* ، AZAD

1. % ، السمية ، التبخير ، الكيمياء الحيوية ، المؤشرات الحيوية.



*Référence
Bibliographique*

A

AbbasipourHabib, Mohammad Mahmoudvand, Fahimeh Rastegar and Mohammad HosseinHosseinpour., 2011. Fumigant Toxicity and Oviposition Deterreny of the Essential Oil from Cardamom, *Elettaria cardamomum*, Against Three Stored—product Insects, 11(165):1-10. 2011.

Aleksandra Popović, Jovana Šućur², Dejan Orčić² and Pero Štrbac, 2013.EFFECTS OF ESSENTIAL OIL FORMULATIONS ON THE ADULT INSECT *TRIBOLIUM CASTANEUM* (HERBST) (COL., TENEBRIONIDAE), p.181-193.

Alouani A.,Rehimi N.,Soltani N., 2009. Laroicidal activity of a new tree exact (azadiracktin) against mosquito larvae in the republic of Algeria, *Jordan.Riol.Sci.2* :15-22.

Anonyme,2014, Le Charançon du blé, Service Antiparasitaire de Bretagnes.

Anticimex AG, . Grain weevil, all. Kornkäfer, ital. punteruolo di grano, 2014, Charançon du blé, Sägereistrasse 25, CH-8152 Glattbrugg.

Arabi¹Farideh, Saeid Moharramipour^{1*} and Fatemeh Sefidkon ., 2008. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Perovskia abrotanoides* (Lamiaceae) against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum*(Coleoptera: Tenebrionidae). pp. 144–150.

Asgar Ebadollahia & Jalal Jalali Sendib a Young Researchers and Elite Club, Ardabil Branch, 27 May 2015,A review on recent research results on bio-effects of plant essential oils against major Coleopteran insect pests, , Islamic Azad University, Ardabil, Iran and b Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht.

Attia Laila., Kouider Sofia.,2016. Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Toxicité, morphométrie, biochimie et biomarqueurs Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, 72 : 248 - 254.

B

Balachowsky AS., 1962. Trait d'entomologie appliquée à l'agriculture. Tom. 01, vol ; 01. Ed. Masson et Cie, Paris ; pp 374-392.

- Banerjee A., Manna, S. & Saha, S.K. 2014.** Effect of aqueous extract of *azadirachta indica* A. Juss (neem) leaf on oocyte maturation, oviposition, reproductive potential and embryonic development of a freshwater fish ectoparasite *Argulus bengalensis* Ramakrishna, 1951 (Crustacea: Branchiura). *Parasitol Res.* 113(12): 4641-4650.
- Barbaro, G., Di Lorenzo, G., Soldini, M., Bellomo, G., Belloni, G. & Grisorio B. (1997).** Glutathion. *Scand. J. Gastroenterol.*, **32(12)**: 1261-6.
- Beaudoin & Lemonde., 1970.** Evolution des glycérides et des acides gras durant la croissance et la métamorphose de *Tribolium confusum*. *J. Insect. Physiol.*, 16: 71-78.
- Ben Khedim Khoulood, DJEDOUANI Houria, 2017.** Etude de l'effet larvicide, pupicide et adulticide d'une plante du genre *Citrus* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*, Mémoire de Master, Université de Tébessa.
- Ben Slimane Badreddine, Mariem Baouindi, 2016** Effects of *Artemisia herba-alba* essential oils on survival stored cereal pests: *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae) and *Trogoderma granarium* (Everst) (Coleoptera, Dermestidae), page: 390, 394.
- Bensafi-Ghraibia Hanene., 2015.** Evaluation du spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides chez *Drosophila melanogaster*: aspects toxicologique, biochimique et comportemental. Thèse de DOC, Université BADJI-MOKHTAR Annaba, page 1.
- Bezzar-Bendjazia R., 2016.** Effet d'un biopesticide, l'azadirachtine, sur un modèle de référence, *Drosophila melanogaster* (Diptera): Toxicité, Développement et Digestion. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Borzoui E., and B. Naseri. 2016.** Wheat cultivars affecting life history and digestive amylolytic activity of *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bull. Entomol. Res.* 106: 464-473.
- Bouabida H., Tine-Djebbar F. & Soltani N., 2016.** Bioactivité du spiromesifène sur deux espèces de moustiques. Editions Universitaires Européennes. ISBN : 978-3-8416-3980-6.
- Bouderhem A., 2015.** Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Master Académique. Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued

Bouguerra N., Tine-Djebbar F. & Soltani N., 2017. Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *International Journal on Mosquito Research*. 4(1): 37-42.

Bouhouhou & Chorfi.,2016. Evaluation Des Effets d'un Biopesticide Sur *Drosophila Mélanogaster*. Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Bouzidi O., Ziani R., 2015. Etude de l'impact des huiles essentielles d'une plante larvicide, l'*Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* : aspect morphométrique et biochimique. Mémoire du diplôme de Master. Université des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie-Tébessa. 28p.

Boyer S.,2006. Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Laboratoire d'Ecologie Alpine., 78 p.

Bradford M.M., 1976.A rapid and sensitive method of the quantitation microgram.

Briegel H.,1990. Metabolic relationship between female body size reserves and fecundity of *Aedes aegypti*.*J. Insect. Physiol.* 36: 165 – 172.

Buyukguzel E.,2009. Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J. Econ. Entomol.* 102:152-159.

C

Caillet S and Lacroix M., 2007.Les huiles essentielles: leur propriétés antimicrobiennes et leur applications potentielles en alimentaire, pp : 1-8.

Chettat H.,2013. Etude des huiles essentielles de *Mentha pepirita* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. Master. Université de Tébessa 45p.

Clément.J.M, les agrumes, la librairie Larousse, Paris, pp 36-37.

Clevenger, J. F.(1928). Les ravageurs des céréales stockées ,Direction régionale et interdépartementale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt d'Ile-de-France Service régional de l'alimentation 18 avenue Carnot – 94 234 CACHAN.

D

Delobel Et Tran, 1993. Les Coléoptères des denrées entreposées dans les régions chauds. Ed. Orstom. pp 125,129.

Di Giulio R.T., Habig C.& Gallagher E.P.,1993. Effects of rock harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol.* 16: 311-320.

Downer R.G.H., 1985. Lipid metabolism. In *Compr. Insect. Physiol. Biochem. And Pharm.* (G. A. Kerkert & L. I. Gilbert, eds). Pergamon Press. Oxford., **10** : 77-113.

DuchateauG. & Florkin M., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, 67: 306-314

F

Franca SM, Oliveira JV, Esteves Filho AB, Oliveira CM. (2012). Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. *Acta Amaz* 42:381–6.

G

Gannagé-Yared, M., Khneisser, I., Salem. N., Gouyette. A., Loiselet. J., Halaby. G. (1998). Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires : relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. *Ann. Biol. Clin.*, **56 (3)** :321-327.

Gauthier, R. (1997). GSH complex pour votre système immunitaire. Nutraxis. 38 p.

George S.G., 1994. Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugating enzymes in fish. In: malins, D.C., Ostrander, G.K. (Eds.), *Aquatic. Toxicology, Molecul. Biochem and Cell. Perspect.* Lewis, Boca Raton, FL, pp 37-85.30: 395-403.

George, D. R., Finn, R. D., Graham, K. M. and Sparagano, O. A., 2014. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. *Parasites and Vectors*, page: 28-355.

Geunasekaram K., Vijayakumar T., Kalyanasumdaram , M. 2009. Larvicidal & emergece inhibitory activities of Neem Azal T/S 1.2 percent EC against vectors of malaria filariasis & dangue Indian J Med Res . 130 (2) : 138-145.

GOIX J., 1986. La bruche du haricot, Phytoma- Défense des cultures, pp: 48-49.

Goldsworthy A.C., Mordue W. & Guthkelch, J., 1972. Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*18:306-314.

Gomah E. Nenaah • Sahar I. A. Ibrahim J Pest Sci., 2011.Chemical composition and the insecticidal activity of certain plants applied as powders and essential oils against two stored-products coleopteran beetles 84:393–402.

Gouasmia H.& Bouchagoura M.,2013. Etude insecticide des huiles essentielles de *Lavandula dentata* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. Mémoire de Master. Université de Tébessa.

H

Habes D., Kilani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P & Soltani N., 2006.Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathion S–transferase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology.*84:17-24.

Habig W.H., Pabst M.J. & Jakoby W.B., 1974. Glutathione S-Tranferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139.

Habluetzel A., Carnevali F., Lucantoni L., Grana L., Attili A.R., Archilei F., AntoninibM., Valbonesid A., Abbadessab V., Espositoa F., Van der Esch, S. A., 2007. Impactof the botanical insecticide Neem Azal® on survival and reproduction of the bitinglouse *Damalinia limbata* on angora goats. *Vet. parasitol*, 144(3), 328-337.

Halaimia ahlem , Chachoui djihen, 2015 ,effet d'un biopesticide, azadirachtine à l'égard d'un ravageur des denrées stockées, mémoire de master

Haubruge E. & Amichot M., 1998. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2 (3): 161-174.

I

Ishtiaq Ahmad, Mansoor-ul-Hasan, Muhammad Rashid Arshad, Muhammad Fahad Khan, Hafeez-ur-Rehman, Syed Muhammad Ali Zahid and Muhammad Arshad., 2016.

Efficacy of different medicinal plant extracts against *Rhyzopertha dominica*(Fabr.) (Bostrichidae: Coleoptera)page: 87-91.

Isman, M., 1999. Pesticides based on plant essential oils pesticide outlook, page : 68-72.

OUEDRAOGO1Issoufou, Alaye SAWADOGO1, Roger CH. NEBIE 2 et Dona DAKOUO1., 2016. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (L) et *Ocimum gratissimum* (L) contre *Sitophilus zeamais* Motsch et *Rhyzopertha dominica* F, les principaux insectes nuisibles au maïs en stockage au Burkina Faso. Pp : 695-705.

J

Jouda Mediouni Ben Jemâa a,* , Soumaya Haouel a, Mohamed Bouaziz b, Mohamed Larbi Khouja c., 2016. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. pp : 61-67.

K

Keely L.L., 1985. Physiology and biochemistry of Fat body, pp. 211-248. In GA Kerkut & L. I. Gilbert (eds): Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology, vol. 3, Pergamon Press, Oxford. 181.

Kehal F.,2013. Utilisation de l'huile essentielle de citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche. Diplôme de Magister. Université Constantine. 51p.

Kemache A. & Meziani H., 2015. Etude de l'effet des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* sur les biomarqueurs à l'égard de deux espèces de moustiques *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Mémoire de Master. Université de Tébessa.

Kilby B.A., 1963. The biochemistry of the insect Fact. *Adv. Insect physiol.*, **1**: 112-174.

Koodalingam A., Deeplakschmi R., Ammu M et Rajalakshmi A. 2014. Effect of Neem Azal on marker enzymes and hemocyte phagocytic activity of larvae and pupae of the vector mosquito *Aedes aegypti*. *Asia .Pac . Entomol . 17* : 175-181.

Kun Yan Zhu.,Marry.L.,Troy.D.,(2007). Sublethal effects of three pesticides of selected target and detoxification enzymes in the aquatic Midge, *Chironomus tentans.*, **51**:360-366.

L

LABEYRIE V., 1962. : Les Acanthoscelides, Entomologie appliquée à l'agriculture
Références bibliographiques In: BALACHOWSKI T(I), Ed Masson publ. Paris, pp : 469-484.

Labrot F.R.D., Tisnerat G., Cabridenc R.& Narbonne J.F., 1996.Le plomb dans l'environnement: sources, mécanismes de transfert et effets biologiques. Dans : «Aspects analytiques du plomb dans l'environnement». *Coordonateur M. Morlot, Lavoisier Tec & Doc editions*, 3-15.

Lepesme P., (1944). Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Paul Lechevalier éditeur, Paris, 336 p., 12 p.

Livingstone D., Lips F., Garcia Martinez., P. & Pipe R. K. 1992.Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis*.*Marine Biology*.112: 265- 276.

Lopez MD, Pascual-Villalobos MJ., Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*. 2010;31(2):284–288

M

Magnin M., Fournier D .& Pasteur N.(1985).Mécanismes physiologiques de la résistance des insectes aux insecticides. *Entomol. Medica et Parasitol.*, 4 :273-280

Maryam Negahban1*, Saeid Moharramipour1, Mojgan Zandi 2, Seyed Ali Hashemi3 and Fariborz Ziaee., 2012. NANO-INSECTICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM CUMINUM CYMINUM ON TRIBOLIUM CASTANEUM. pp: 63-68

Masumeh Ziaee., 2014. The effects of topical application of two essential oils against *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). page: 589-595.

Mazarin Akami1,2*, Changying Niu1, Hamada Chakira1, Zhenzhong Chen1, Tigamba Vandii2 and Elias Nchiwan Nukenine2., 2016.Persistence and Comparative Pesticidal Potentialsof Some Constituents of *Lippia adoensis* (Hochst.ex Walp.) (Lamiales: Verbenaceae) Essential Oilagainst Three Life Stages of *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae), *13(4): 1-16.*

Meghlaoui Z. Mansouri K., 2010. Effet d'un bio-insecticide, le spinosad sur *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae): Activité spécifique de la GST et du GSH. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar. Annaba., pp 7-21.

Mohammad Mahmoudvand1, 2*, Habib Abbasipour1, Moslem Basij1, Mohammad Hossein Hosseinpour1, Fahimeh Rastegar1, and Mohammad Bagher Nasiri1., 2016. FUMIGANT TOXICITY OF SOME ESSENTIAL OILS ON ADULTS OF SOME STORED-PRODUCT PESTS. pp : 83-89.

Morakchi-Kilani S, Maiza A, Farine JP, Aribi N, Soltani N (2005). Effects of a neonicotinoid insecticide (acetamipride) on acetylcholinesterase activity and cuticular hydrocarbons profile in german cockroach. Comm. Appl. Biol. Sci. Ghent Univ. 70(4):843-848.

Mordue L.A.J., Morgan .E.D ., Nusbet A.J. 2005 . Azadirachtin , a natural product in insect control . In : Gillbert, L.I ., Latrou , K .& Gill, S.S (Eds) . Comprehensive Molecular Insect Science. Elsevier , Oxford , UK. 6 : 117-135.

Mourier A., 1979. Animaux et insectes hots cachés de nos maisons .Ed. Delachaux et Niestlé.

Murray B. Isman., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. page: 603,608

N

Negahban M, Moharramipour S, Zandi M, Hashemi SA, Ziayee F (2012) Nano-insecticidal activity of essential oil from *Cuminum cyminum* on *Tribolium castaneum*. pp: 63-68.

Ngamo, T. S. L., Ngassoum, M. B., Mapongmestsem, P. M., Noudjou, W. F., Malaisse, F., Haubruge, E., Lognay, G. Kouninki, H. and Hance, T. (2007) .Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical, 25, 4, 215-220

Nowosielski J.W. & Patton R.L., 1965. Variations in the haemolymph protein, amino acid, and lipid levels in adult house crickets, *Acheta domesticus* L., of different ages. *J. Insect. Physiol.*, 11 : 263-270.

P

Parapanthadara L., Promtet N., Koottathep S., Sombon P.& Ketterman A.J.,2000. Isoenzymes of glutathion S-transferase from mosquito *Anopheles* species B: the purification, partial characterization and interaction with various insecticides. *Insect. Biochem. Mol Biol.*, 30: 395-403.

Pasteur N.&Raymond M.,1996. Insecticide resistance genes in mosquitos: their mutations, migration and selection in field population. *Journal of Heredity*. 87: 444-449.

Patrick Ntonga Akono, Jean Arthur Mbida Mbida, Pierre Michel Jazet Dongmo, Calvin Tonga, Lylle Audrey Djomi Tchamga, Francis Mounbain, Gaëlle Tamdem Magne, Pasma Nkouandou Mache and Sevilor Kekeunou., 2016. Chemical composition and Insecticidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus grandis*, *Citrus medica* and *Citrus sinensis* leaves from Cameroon on *Anopheles gambiae* Giles, pp : 17-23

Picollo M. I., A. C. Toloza, G. Mougabure Cueto, J. Zygadlo, and E. Zerba, “Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids,” *Fitoterapia*, vol. 79, no. 4, pp. 271–278, 2008

R

Robertson, J. L., Smith, K. C., Savin, N. E. and Lavigne, R. J., 1984. Effects of dose selection and sample size on the precision of lethal dose estimates in dose mortality regression. *Journal of Economic Entomology*, 77: 833-837.

Rufeingier C., Pasteur N., Lagnel J., Martin C. &Navajas M.,1999. Mechanisms of insecticide resistance in the aphid *Nsonovia ribisnigri* (Mosley) (Homoptera: Aphididae) from France. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 29: 385-391.

S

Saci-Messiad. R.,2006. Effet d'un régulateur de croissance, l'azadirachtine chez *Blattella germanica* (*Dictyoptera: Blattellidae*): physiologie, activité enzymatique et comparaison de la détoxification avec d'autres groupes de pesticides. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar- Annaba. 94 p.

Sahbi F., Aouni M., 2015. Impact des huiles essentielles de *Lavandula dentata* sur la biochimie, la morphométrie chez une espèce de moustique *Culex pipiens*. Mémoire de Master. Université de Tébessa. p : 28-32.

Saleem M.A.& Shakoori A.R.,1987. Joint effects of dimilin and Ambush on enzyme activities of *Tribolium castaneum*. *Pestic.Biochem. Physiol.*29: 127-137.

Sayada N.& Messai S.,2015. Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide *Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: aspect morphométrique et biomarqueurs. Mémoire de Master. Université de Tébessa.,37p.

Shahid Chamran., 1993. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines.*Herbal Gram.* 28: 13-14.

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

Smallfield B., 2001.Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes.*Crop& Food Research.*45:4.

Soderlund D.M., 1997.Molecular mechanisms of insecticide resistance.In situ V (Ed). Molecular mechanisms of resistance to agrochemicals, Chemistry of plant protection. *Springer, Berlin Heidelberg New York.*,13: 21-56.

Souissi S., Forget-Leray J., Budzinski H., Dauvin J.-C., Schmitt F. G., Hwang J.S.& Eunmi Lee C., 2008. Synthèse des travaux réalisés sur le modèle biologique *Eurytemora affinis* dans Seine-Aval 3. UMR CNRS 8187 LOG. 49 + 45, Rapport Seine-Aval.

Steel J.E.,1981.The role of carboxydrate metabolism in physiological function. Pp: 103-133. IM R. G. H. Downer (eds): Energy metabolism insects plenum press, New york.

Sun C.N., Huang S.Y., Hu N.T.& Chung W.Y.,2001.Gluthation S-transferase and insect resistance to insecticides. *National Chang-hsing university, Taichung, Taiwan, Republic of China.*, p: 254-269.

Svoboda K. P. & Hampson J. B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. *Aromatopia*. 35:50–54

T

Tapondjou A. L., Adler C., Fontem D. A., Bouda H. and Reichmuth C., 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val, pp: 91–102.

Taylor M. & Feyereisen R., 1996. Molecular biology and evolution of resistance to toxicants. *Mol. Biol. Evol.* 13: 719 – 734.

Tine S. 2013. Etude de la biodiversité des blattes dans la région semi-arides et arides et évaluation de l'impact d'insecticides chez *Blattella germanica* et *Blatta orientalis* (Dictyoptera, Blattellidae). Université Badji Mokhtar Annaba. 202 p.

Tine S., Aribi N & Soltani N . 2011. Laboratory evaluation of azadiractin against the oriental cockroach, *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera , Blattellidae) : Insecticidal activity and reproductive effects . *Afr J Biotechnol* . 10 (85) : 19816 – 19824.

Tine-Djebbar F., 2009. Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofénozide, méthoxyfénozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. 168p.

Todorova-Todorova T., 2007. Glutathione S-transferases and oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Louis Pasteur, Strasbourg et de l'Université de Sofia St. Kliment Ohridski., 160p.

V

Valizadeh B., Sendi J.J., Zibae A. & Oftadeh M. 2013. Effect of Neem based insecticide Achook® on mortality, biological and biochemical parameters of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull (Col.: Chrysomelidae). *J Crop Prot.* 2(3): 319- 330.

Valles S.M., Koehler P.G. & Brenner R.J. (2000). Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzymes activities among pestiferous Blattodea. *Comp. Biochem. Physiol.*, 124:227-232.

Van Handel E., 1984. Metabolism of nutrients in the adult mosquito. *Mosq. News.* 44 : 573 – 579.

Van Hendsen H.C. & Law J.H., 1989. An insect transports particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, 264 : 287-292.

Vlaykova T, Gulubova M, Vlaykova D, Cirovski G, Yovchev Y, Julianov A ., (2008). Expression of the xenobiotic- and reactive oxygen species-detoxifying enzymes, GST-pi, Cu/Zn-SOD and Mn-SOD in primary hepatocellular carcinoma. *Trakia J Sci.*, 6:14–21 p.

W

Wang J, Zhu F, Zhou MX, Niu CY, Lei CL., 2006. Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Stored Prod Res* 42:339–347

War A.R., Paulraj M.C., Hussain B., Ahmed T., War M.Y. & Ignacimuthu S. 2014. Efficacy of a combined treatment of neem oil formulation and endosulfan against *Helicoverpa armigera* (Hub). (Lepidoptera :Noctuidae). *Int J Insect Sci.* 6 :1-7

Weckberker G. & Cory J. G., 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters.* 40. 257–264.

Wiens A.W. & Gilbert T. 1967. Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in *Leucophaea maderae*. *J. Insect. Physiol.* 13: 779-794.

Wyatt G.R., 1967. The biochemistry of insect haemolymph. *A. Rev. Ent.* 6: 75-102.

Z

Z. Imanuel, 2004, Les ravageurs des céréales stockées, Compagnie Générale des Insecticides 9, rue Louis Armand - d'Epluches St-Ouen l'Aumône 95315 CERGY PONTOISE CEDEX.

- **Site web**

(chrome-extension://mhjfbmdgcfjbbpaeojfohoefgiehjai/index.html).

FAO, 2016[<http://www.fao.org/docrep/005/y1390f/y1390f00.htm#Contents>]

http://www.prophy-vegetal.fr/QUI_SOMMES_NOUS.html

<http://www.sojam.fr/wp-content/uploads/PIRIGRAIN-Guide-conseil.pdf>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Azadirachtine>

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Citronnier>

https://www.anticimex.com/globalassets/_sverige-sv-se/media/documents/finansiellinformation/anticimex-annual-report-for-2014.pdf

<https://www.google.com/#q=Studyandscore.com>

Julia Mouton - M2 –VRV 2011/2012 [<https://www.google.com/search?q=Julia%20Mouton%20%20M2%20%E2%80%93VRV%202011%2F2012&cad=h>]*