



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



**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER**

**Spécialité : ECOPHYSIOLOGIE ANIMALE**

**Thème**

Evaluation de l'effet d'une molécule bioactive sur les paramètres biochimiques et physiologiques d'un ravageur des stocks, *Rhyzopertha dominica*

**Présenté par :**  
**M. TRAD Mahdi**  
**M. TINE Akram Ouassim**

**Membres de Jury :**

Pr. TINE-DJEBBAR Fouzia	U. Larbi Tébessi-Tébessa	Rapporteur
Pr. TALEB Salima	U. Larbi Tébessi-Tébessa	Président
Dr. BOUAZDIA Karim	U. Larbi Tébessi-Tébessa	Examineur

**Année universitaire : 2021/2022**



# *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu tout puissant et  
miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce  
.modeste travail*

*Nous remercions Professeur TALEB Salima d'avoir accepté de  
présider ce jury.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadreur  
Professeur TINE-DJEBBAR Fouzia, qui nous a fait l'honneur de diriger ce  
travail*

*Nous remercions Docteur BOUAZDIA Karim qui a accepté d'être  
.membre de jury et de nous faire l'honneur de juger ce travail*

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

# *SOMMAIRE*

# Sommaire

Titres	Pages
<b>I. INTRODUCTION</b>	<b>01</b>
<b>II. MATERIEL ET METHODES</b>	<b>03</b>
2.1. Présentation de l'insecte	03
2.2. Techniques d'élevage au laboratoire	05
2.3. Présentation de la molécule bioactive, le Menthol	07
2.4. Traitement et bioessais	07
2.4.1. Toxicité par fumigation	07
2.4.2. Toxicité par ingestion	08
2.5. Test de répulsion	09
2.6. Extraction et dosage des constituants biochimiques	10
2.6.1. Dosage des protéines totales	11
2.6.2. Dosage des glucides totaux	11
2.6.3. Dosage des lipides totaux	12
2.7. Dosage des enzymes digestives	14
2.7.1. Dosage de l' $\alpha$ -amylase	14
2.7.2. Dosage de la chitinase	15
2.7.3. Dosage de la lipase	15
2.7.4. Dosage de la protéase	15
2.8. Dosage des biomarqueurs enzymatiques	16
2.8.1. Alanine Aminotransférase (ALT)	16
2.8.2. Dosage de l'Aspartate Aminotransférase (AST)	16
2.8.3. Dosage de la Phosphatase alcaline (PAL)	17
2.8.4. Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH)	18
<b>III. RESULTATS</b>	<b>19</b>
3.1. Essai insecticide du Menthol	19
3.1.1. Toxicité par ingestion	19
3.1.2. Toxicité par fumigation	20
3.2. Effet répulsif du Menthol	22
3.3. Effet du Menthol sur les enzymes digestives	22
3.4. Effet du menthol sur la composition biochimique	24
3.5. Effet du menthol sur les biomarqueurs enzymatiques	25

<b>V. DISCUSSION</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Toxicité du Menthol à l'égard de <i>Rhyzopertha dominica</i></b>	<b>27</b>
<b>4.2. Effet répulsif du menthol</b>	<b>29</b>
<b>4.3. Effet du Menthol sur la composition biochimique</b>	<b>30</b>
<b>4.3.1. Effet sur les protéines</b>	<b>30</b>
<b>4.3.2. Effet sur le contenu en glucides</b>	<b>31</b>
<b>4.3.3. Effet sur le contenu en lipides</b>	<b>32</b>
<b>4.4. Effet du Menthol sur les biomarqueurs enzymatiques</b>	<b>32</b>
<b>4.5. Effet du Menthol sur un biomarqueur du stress oxydatif (LDH)</b>	<b>33</b>
<b>4.6. Effet du Menthol sur les enzymes digestives</b>	<b>34</b>
<b>V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b>	<b>37</b>
<b>VI. RESUME</b>	<b>38</b>
<b>VII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>41</b>

*Liste des tableaux*

## Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
<b>Tableau 1</b>	Classement de Mc Donald <i>et al.</i> (1970) selon les pourcentages de répulsion.	<b>10</b>
<b>Tableau 2</b>	Dosage des protéines totales chez les adultes de <i>R. dominica</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>11</b>
<b>Tableau 3</b>	Dosage des glucides totaux chez les adultes de <i>R. dominica</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>11</b>
<b>Tableau 4</b>	Dosage des lipides totaux chez les adultes de <i>R. dominica</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>12</b>
<b>Tableau 5</b>	Efficacité du Menthol appliqué sur les adultes de <i>R. dominica</i> : analyse des probits.	<b>20</b>
<b>Tableau 6</b>	Efficacité du Menthol appliqué sur les adultes de <i>R. dominica</i> : analyse des probits.	<b>21</b>
<b>Tableau 7</b>	Pourcentage (PR) et classe (CR) de répulsion du Menthol sur les adultes de <i>R. dominica</i> .	<b>22</b>

# *Liste des figures*

# Liste des figures

Figures	Titres	Pages
<b>Figure 1</b>	Adulte de <i>R. dominica</i> (Photos personnelles) ( <b>A</b> : Face dorsale ; <b>B</b> : face latérale ; <b>C</b> : face ventrale).	<b>3</b>
<b>Figure 2</b>	Dégâts causés par <i>Rhyzopertha dominica</i> (Photos personnelles).	<b>4</b>
<b>Figure 3</b>	Cycle biologique de <i>Rhyzopertha dominica</i> <b>A</b> : Œuf (Koroghli, 2018) ; <b>B</b> : Larve (wiki) ; <b>C</b> : Nymphé (photo personnelle) ; <b>D</b> : Adulte (photo personnelle).	<b>5</b>
<b>Figure 4</b>	Tri et élevage du capucin au laboratoire (Photos personnelles).	<b>6</b>
<b>Figure 5</b>	Molécule bioactive, le menthol sous forme de poudre (Photo personnelle).	<b>7</b>
<b>Figure 6</b>	Test de toxicité par fumigation (Photos personnelles).	<b>8</b>
<b>Figure 7</b>	Test de toxicité par ingestion (Photos personnelles).	<b>9</b>
<b>Figure 8</b>	Test de répulsion (Photos personnelles).	<b>10</b>
<b>Figure 9</b>	Extraction des protéines, glucides, et lipides totaux selon Shibko <i>et al.</i> (1967).	<b>13</b>
<b>Figure 10</b>	Kit de TGO (Photo personnelle).	<b>16</b>
<b>Figure 11</b>	Kit de TGP (Photo personnelle).	<b>17</b>
<b>Figure 12</b>	Kit de PAL (Photo personnelle).	<b>18</b>
<b>Figure 13</b>	Kit de LDH (Photo personnelle).	<b>18</b>
<b>Figure 14</b>	Toxicité du Menthol appliqué par ingestion ( $\mu\text{l/ml}$ ) sur les adultes de <i>R. dominica</i> à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ( $m \pm \text{SEM}$ , $n=3$ répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.	<b>19</b>
<b>Figure 15</b>	Effet du Menthol appliqué par ingestion sur les adultes de <i>R. dominica</i> à différentes périodes : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	<b>20</b>
<b>Figure 16</b>	Toxicité du Menthol appliqué par fumigation ( $\mu\text{l/l}$ d'air) sur les adultes de <i>R. dominica</i> à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ( $m \pm \text{SEM}$ , $n=3$ répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.	<b>21</b>
<b>Figure 17</b>	Effet du Menthol appliqué par fumigation sur les adultes de <i>R. dominica</i> à différentes périodes : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	<b>21</b>

<b>Figure 18</b>	Effet du menthol (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) sur l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase (A), lipase (B), protéase (C) et chitinase (D) chez les adultes de <i>R. dominica</i> à 3h et 6h après traitement (m $\pm$ SEM, n=3 répétitions, comportant chacune 10 individus).	<b>23</b>
<b>Figure 19</b>	Effet du Menthol (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) appliqué par ingestion sur le contenu en protéines (A), lipides (B) et glucides (C) chez les adultes de <i>R. dominica</i> à 3h et 6h après traitement (m $\pm$ SEM, n=3 répétitions, comportant chacune 10 individus).	<b>25</b>
<b>Figure 20</b>	Effet du Menthol (CL <sub>25</sub> et CL <sub>50</sub> ) appliqué par ingestion sur les biomarqueurs enzymatiques : PAL (A), TGO (B) et TGP (C) et LDH (D) chez les adultes de <i>R. dominica</i> à 3h et 6h après traitement (m $\pm$ SEM, n=3 répétitions, comportant chacune 10 individus).	<b>26</b>

# *INTRODUCTION*

## I. INTRODUCTION

Il est reconnu que le blé, le riz et le maïs constituent la base alimentaire des populations du globe. En Algérie, les céréales et leurs dérivées constituent l'épine dorsale du système alimentaire Algérien (Benlameur, 2016). En effet, elles fournissent plus de 60% de l'apport calorique, et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire nationale (Feillet, 2000). C'est pourquoi la connaissance des phénomènes régissant leur conservation et la maîtrise des techniques de leur stockage sont déterminantes pour la survie de millions de personnes.

Malheureusement, au cours du stockage, les céréales subissent des altérations diverses, d'ordre abiotique et biotique (Caid *et al.*, 2008). Les facteurs biotiques incluent les différents ravageurs des stocks, alors que les facteurs abiotiques favorisent le milieu de vie de ces prédateurs comme la température, l'humidité et aussi la teneur en gaz carbonique et oxygène (Sharma & Bhandari, 2014). A l'échelle mondiale, les pertes de produits agricoles occasionnées par les ravageurs des denrées stockées sont estimées en moyenne à 10% et représentent une valeur monétaire annuelle de près de 58 milliards US\$ selon les récentes statistiques de la FAO (De Carvalho *et al.*, 2013).

Les pertes les plus importantes sont infligées par différentes espèces de coléoptères, lépidoptères et acariens (Fleurat-Lessard *et al.*, 1994). Parmi ces coléoptères, figurent le petit capucin des grains *Rhyzopertha dominica* (F, 1792) et le charançon de blé *Sitophilus granarius* (L, 1758). Ce sont des ravageurs primaires qui causent d'énormes dégâts au niveau des stocks.

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

Mais l'utilisation abusive de ces derniers a provoqué l'apparition des phénomènes de résistances, la pollution et l'atteinte de la santé humaine (Ali *et al.*, 2017). Ces dangers ont

conduit l’OMS (Organisation mondiale de la Santé) à interdire l’usage de certains insecticides chimiques.

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

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

**La deuxième partie** vise à déterminer l’effet de cette molécule sur les biomarqueurs enzymatiques (TGP, TGO, LDH et phosphatase alcaline) chez les adultes de *Rhyzopertha dominica*.

**La troisième partie** examine les effets létaux (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) de la molécule bioactive, le menthol sur les réserves nutritionnelles (protéines, glucides et lipides) chez cette espèce.

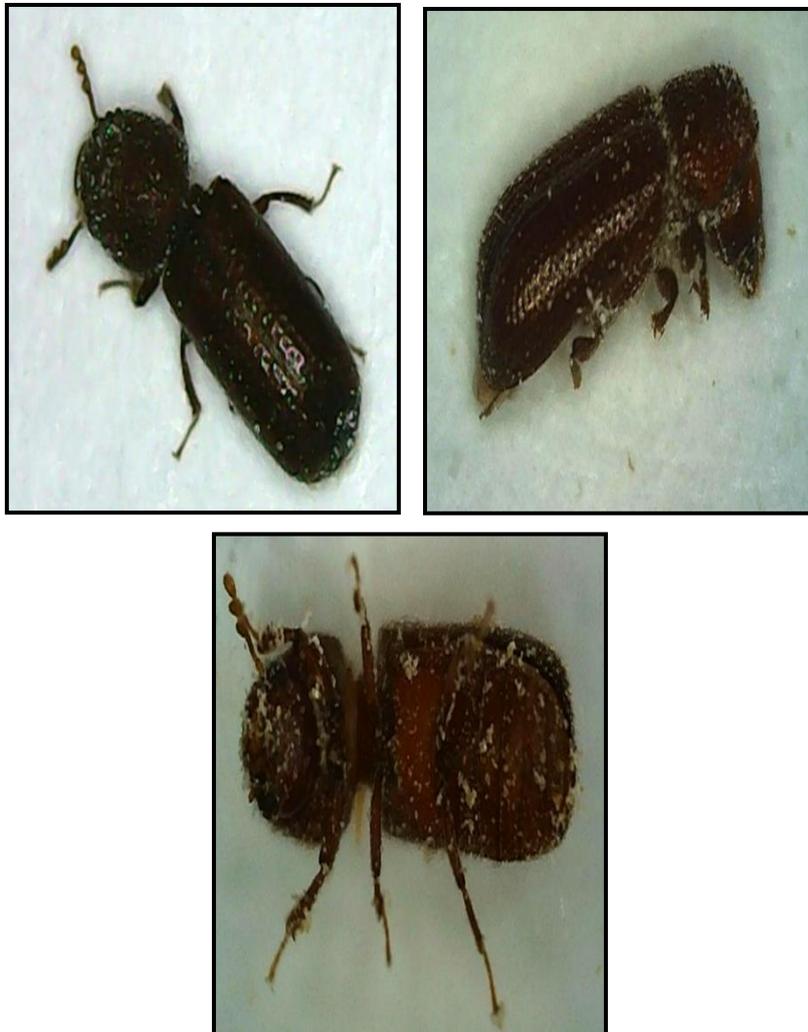
**La quatrième partie** vise à évaluer les effets létaux (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) de la molécule bioactive, le menthol sur les enzymes digestives (Lipase,  $\alpha$ -amylase, protéase et chitinase) chez les adultes de *Rhyzopertha dominica*.

*MATERIEL ET  
METHODES*

## II. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Présentation de l'insecte

*R. dominica*, ravageur primaire, est un Coléoptère de la famille des Bostrichidae. C'est un petit insecte capable d'attaquer les grains sains et entiers (Ripusudan *et al.*, 2002). Les adultes sont de couleur brune plus ou moins rougeâtre, presque cylindriques et mesurent 4mm de long avec une grosse tête penchée sous le thorax (Fig.1). Cet insecte également appelé capucin des grains, s'attaque aux blés et au maïs stockés (Fig.2). Ce sont surtout les adultes qui font des ravages en s'attaquant au germe et à l'albumen qu'ils réduisent en farine. Le cycle de vie de cette espèce est représenté dans la Figure 3.



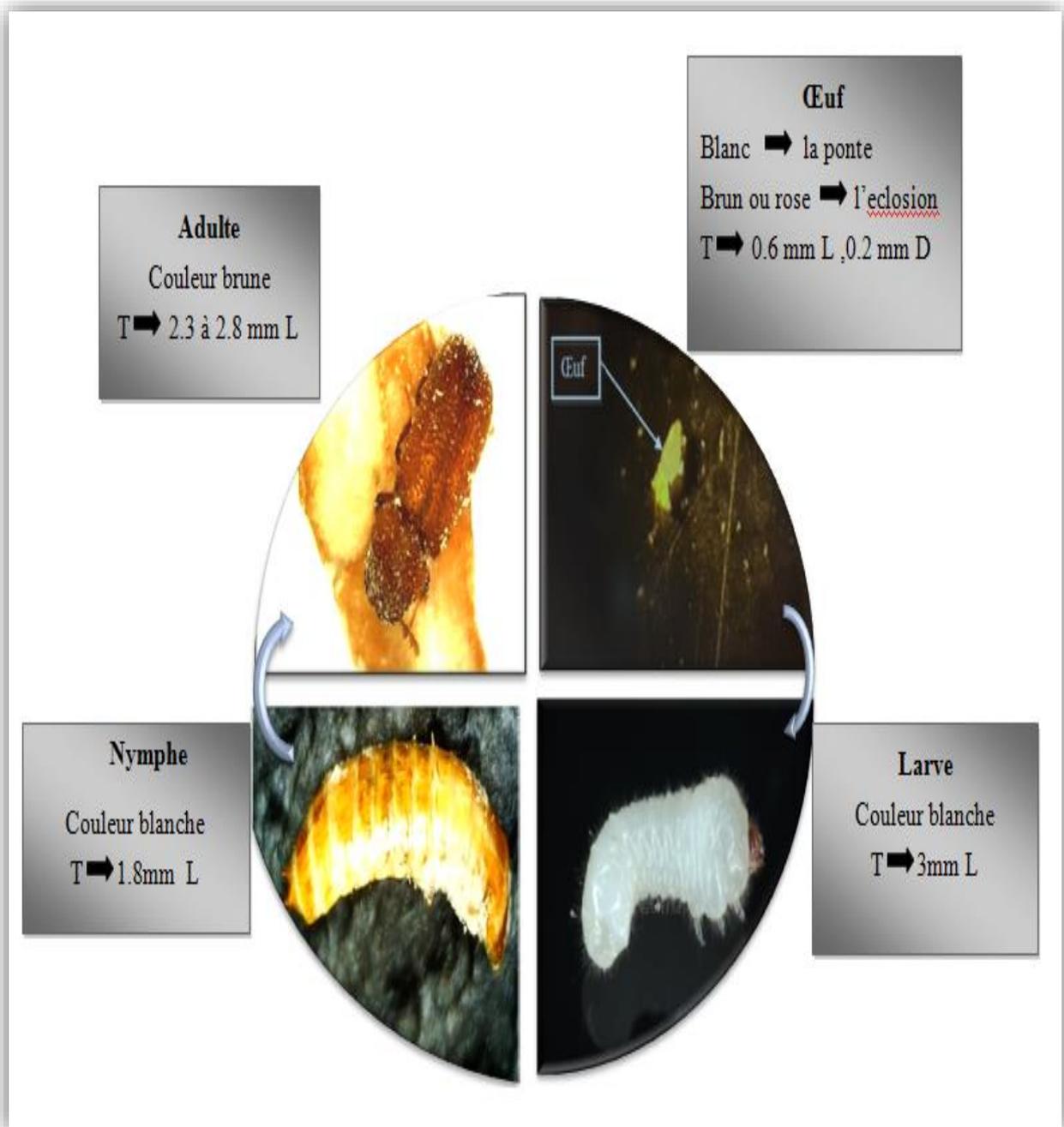
**Figure 1.** Adulte de *R. dominica* (Photo personnelle)  
(A : Face dorsale ; B : face latérale ; C : face ventrale).

La position systématique de *Rhyzopertha dominica* (F. 1792) est la suivante :

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Embranchement</b>	Arthropoda
<b>Sous-embranchement</b>	Hexapoda
<b>Classe</b>	Insecta
<b>Sous-classe</b>	Pterygota
<b>Infra-classe</b>	Neoptera
<b>Ordre</b>	Coleoptera
<b>Sous-ordre</b>	Polyphaga
<b>Infra-ordre</b>	Bostrichiformia
<b>Super-famille</b>	Bostrichoidea
<b>Famille</b>	Bostrichidae
<b>Sous-famille</b>	Dinoderinae
<b>Genre</b>	<i>Rhyzopertha</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rhyzopertha dominica</i> <b>F. 1792</b>



**Figure 2.** Dégâts causés par *Rhyzopertha dominica* (Photos personnelles).



**Figure 3.** Cycle biologique de *Rhyzopertha dominica*

A : Œuf (Koroghli, 2018) ; B : Larve (wiki) ; C : Nympe (photo personnelle) ;  
D : Adulte (photo personnelle).

## 2.2. Techniques d'élevage au laboratoire

La collecte des ravageurs est réalisée chez un agriculteur de la région de Tébessa. L'élevage de masse de *Rhyzopertha dominica* a été réalisé au Laboratoire Eau et Environnement à l'Université de Tébessa, dans des bocaux en plastique (2L) dont chacun contient 1kg de blé sain

dur non infesté et non traité, utilisé comme substrat alimentaire provenant de la coopérative des céréales et des légumes secs. Le criblage a été effectué à l'aide d'un tamis de 2 mm et un papier filtre blanc pour qu'on puisse repérer le ravageur à l'œil nu (Fig. 4). L'élevage maintenu à une température de  $27 \pm 1$  °C, est suivi quotidiennement et les adultes nouvellement exuviés sont utilisées pour toutes les expérimentations.



**Figure 4.** Tri et élevage du capucin au laboratoire (Photos personnelles).

### 2.3. Présentation de la molécule bioactive, le Menthol

Le Menthol est un composé organique covalent obtenu soit par la synthèse, soit par l'extraction de l'huile essentielle de la menthe poivrée ou d'autres espèces de menthe (Fig. 5). Le stéréo-isomère le plus courant du menthol est le (-)-Menthol. Il appartient à la famille des monoterpènes. A une température ambiante (20 à 25 °C), il se trouve sous forme solide blanc

cireux, et il fond si l'on augmente légèrement la température. Le menthol a des propriétés anti-inflammatoires et antivirales.



**Figure 5.** Molécule bioactive, le menthol sous forme de poudre (Photo personnelle).

## 2.4. Traitement et bioessais

### 2.4.1. Toxicité par fumigation

Après un screening préalable, le menthol dissout dans l'acétone (3%) a été appliqué à différentes concentrations : 5, 10, 20 et 40  $\mu\text{l/l}$  d'air sur un disque de papier filtre de 2 cm de diamètre, suspendu à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle. Le traitement a été appliqué dans des flacons en plastiques d'une capacité de 60 ml contenant chacune 10g de blé sain et 10 individus, trois répétitions ont été réalisées pour chaque concentration (Fig. 6). Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent uniquement du solvant. Les mortalités enregistrées à 24, 48 et 72h après traitement sont corrigées selon la formule d'Abbott (1925), et les concentrations létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM7.



Figure 6. Test de toxicité par fumigation (Photos personnelles).

#### 2.4.2. Toxicité par ingestion

Après un screening préalable, le menthol dissout dans l'éthanol a été appliqué à différentes doses (0,5 ; 1 ; 2 et 4  $\mu\text{l/ml}$ ) sur 5g de blé sain dans des flacons en plastique. Après une évaporation totale du solvant pendant 15min, 10 adultes de *R. dominica* sont introduits dans les flacons. Le bioessai a été réalisé en 4 répétitions pour chaque dose. Une série témoin est conduite en parallèle et les grains de blé reçoivent uniquement du solvant (Fig. 7). Les mortalités enregistrées à 1h, 3h et 6h après traitement ont été corrigées selon la formule d'Abbott (1925), afin d'éliminer les mortalités naturelles. Les concentrations létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

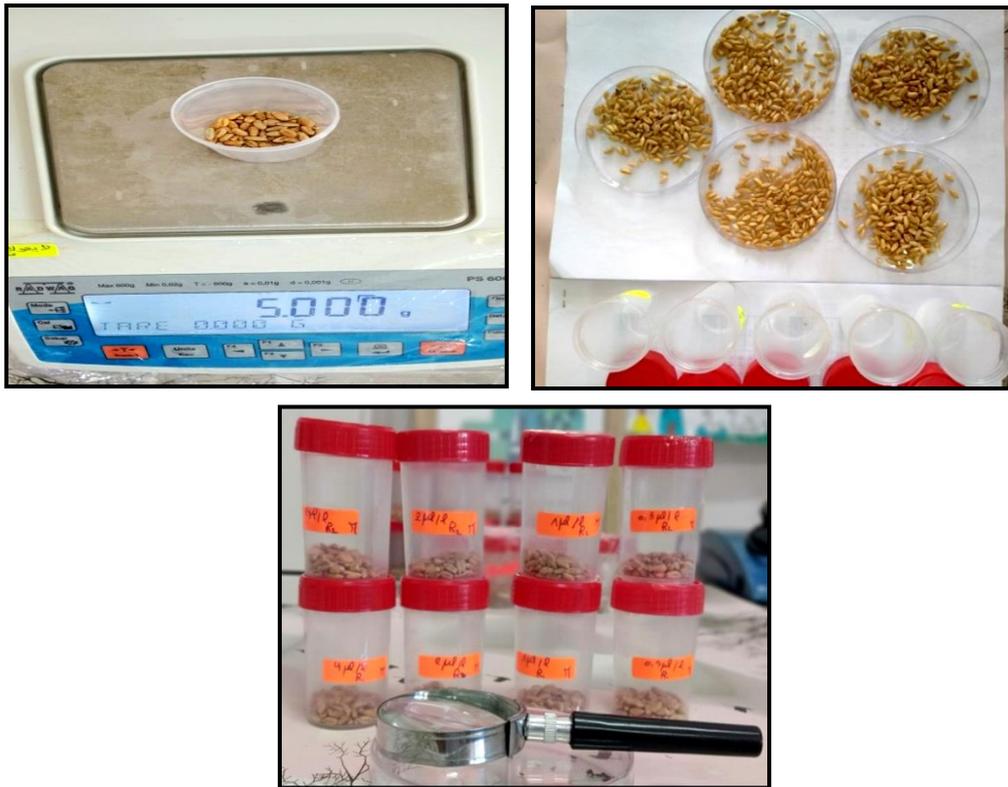


Figure 7. Test de toxicité par ingestion (Photos personnelles).

## 2.5. Test de répulsion

Ce test est utilisé pour calculer le pourcentage de répulsion du Menthol à l'égard des adultes de *R. dominica*, par la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par McDonald *et al.* (1970). Des disques de papier filtre de 9 cm de diamètre, sont coupés en deux parties égales, une moitié du papier est traitée avec le Menthol additionné d'acétone et l'autre moitié est traitée avec de l'acétone uniquement (Fig. 8).

Des doses de 5µl/ml, 10µl/ml et 20µl/ml du Menthol sont diluées dans 1 ml d'acétone, pour que la répartition soit homogène sur le papier filtre. Les deux demi disques de papier filtre sont séchés à l'air libre et le disque est reconstitué puis mis dans une boîte de pétri. Dix individus sont déposés sur le papier filtre au milieu des boîtes de pétri et trois répétitions sont réalisées pour chaque dose. Après 15 min, 30min, 1h, 2h et 3h de traitement, le dénombrement des individus sur les demi-disques est réalisé. Le pourcentage de répulsion (PR) est ainsi calculé selon la formule utilisée par Nerio *et al.* (2009) comme suit :

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

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

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



**Figure 8.** Test de répulsion (Photo personnelle).

Le pourcentage moyen de répulsion calculé, est attribué à l'une des différentes classes variant de 0 à 5 (Mc Donald *et al.*, 1970) (Tableau 1).

**Tableau 1.** Classement de Mc Donald *et al.* (1970) selon les pourcentages de répulsion.

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

## 2.6. Extraction et dosage des constituants biochimiques

Les adultes témoins et traités au menthol (CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub>) ont été prélevés à différentes périodes et conservés dans 1 ml de TCA (acide trichloroacétique) à 20%. L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966) (Fig. 9). Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu, servira pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on

obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford (1976).

### 2.6.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976), dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G250 (Merck). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de boeuf (BSA) titrant 1 mg/ml (Tableau 2).

**Tableau 2.** Dosage des protéines totales chez les adultes de *R. dominica* : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	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

### 2.6.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 µl de surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80°C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau 3).

**Tableau 3.** Dosage des glucides totaux chez les adultes de *R. dominica*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

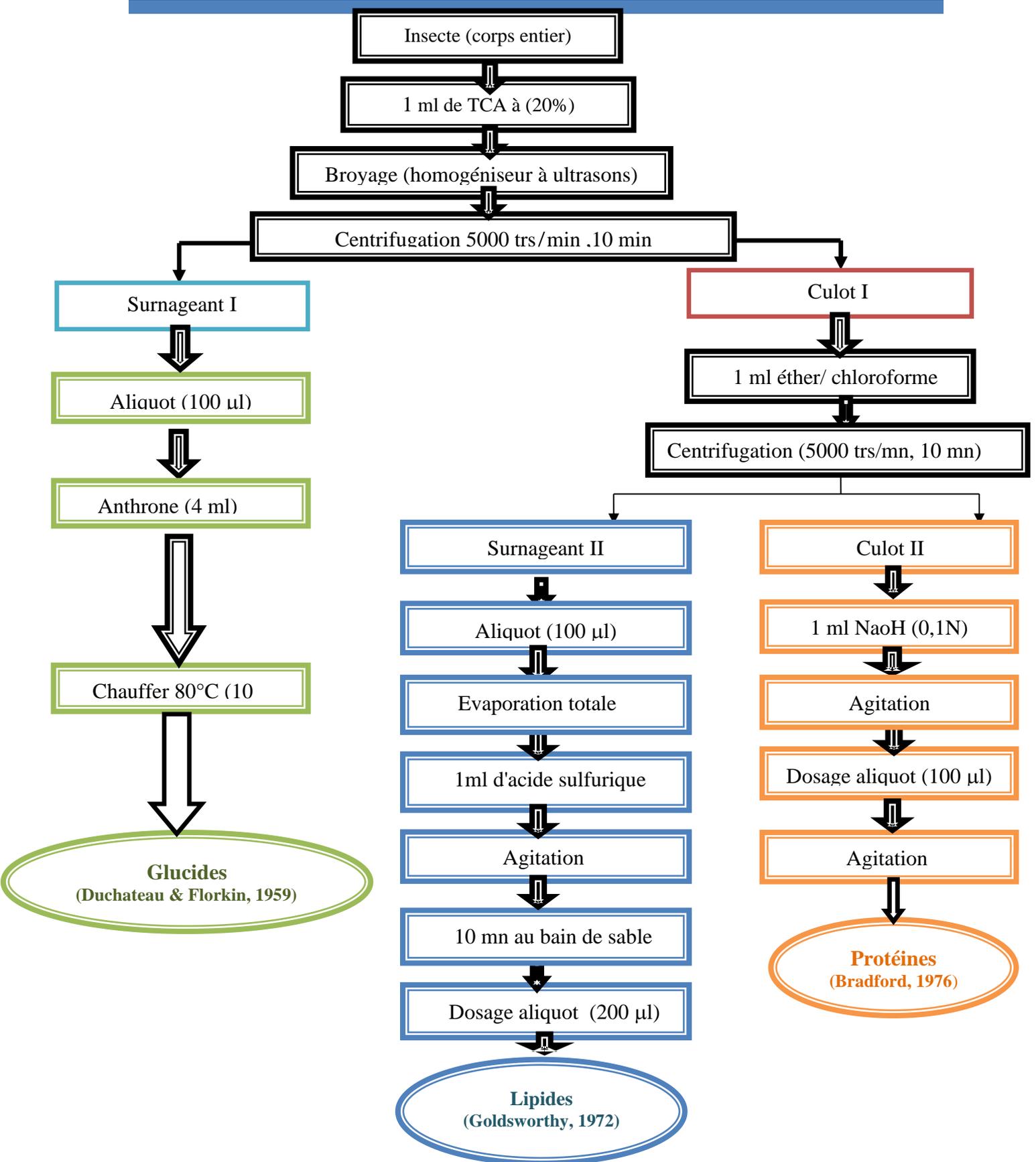
Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

### 2.6.3. 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 adultes de *R. dominica*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0



**Figure 9.** Extraction des protéines, glucides, et lipides totaux selon *Shibko et al. (1967)*.

## 2.7. Dosage des enzymes digestives

### - Préparation des extraits enzymatiques

Les adultes de *R. dominica* des séries témoins et traitées (CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub>) prélevés à 6h après traitement, ont fait l'objet d'un dosage de l'activité de quatre enzymes digestives :  $\alpha$ -amylase, chitinase, protéase et lipase. Dix individus sont homogénéisés dans 1 ml de tampon universel, l'homogénat ainsi obtenu est centrifugé à 13000 trs/min pendant 15 min et le surnageant récupéré est conservé jusqu'au dosage où il servira comme source d'enzyme. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque série d'expérience. Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminée suivant la méthode de [Bradford \(1976\)](#), qui utilise le bleu brillant de coomassie (G250) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf comme standard, et ce afin de pouvoir calculer les différentes activités spécifiques.

#### 2.7.1. Dosage de l' $\alpha$ -amylase

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

Le protocole de dosage est réalisé comme suit : 20  $\mu$ l d'extrait enzymatique sont ajoutés à 100  $\mu$ l de tampon universel et 40  $\mu$ l d'amidon. Après une incubation de 30 minutes à 35°C, la réaction est stoppée par l'addition de 100  $\mu$ l de DNS et un chauffage de 10 minutes au bain marie (100°C). Après refroidissement à température ambiante, 100  $\mu$ l d'eau distillée sont ajoutés.

L'absorbance est mesurée à 540 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (20  $\mu$ l d'eau distillée remplaçant la source d'enzyme). Le calcul de l'activité enzymatique est effectué grâce à une courbe d'étalonnage de maltose (0 - 1  $\mu$ M/ml) réalisée à partir d'une solution mère de maltose (180 mg/ml). L'activité spécifique d' $\alpha$ -amylase est exprimée en  $\mu$ M/min/mg de protéine.

### 2.7.2. Dosage de la chitinase

Le dosage de l'activité chitinase est réalisé selon le protocole de [Miller \(1959\)](#) basé sur l'hydrolyse enzymatique de la chitine (polymère de chitobiose) en N-acetyl-D glucosamine (monomère de sucre réducteur).

Une fraction aliquote de 250 µl d'extrait enzymatique est additionnée à 250 µl de chitine colloïdale (1%); le mélange est ensuite incubé pendant 30 min à 50°C sous agitation (120 trs/min) avant d'être transféré au bain marie (100°C pendant 5 min). Après refroidissement à température ambiante et centrifugation à 5000 trs/min pendant cinq minutes, 150 µl de surnageant sont additionnés à 300 µl de tampon universel et 200 µl de DNS. Le mélange est incubé 10 minutes au bain marie à 100°C puis refroidi à 4°C.

L'absorbance est mesurée à 540 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (250 µl d'eau distillée remplaçant l'enzyme). L'activité enzymatique a été estimée grâce à une gamme étalon de N-acétylglucosamine (0 - 0,144 mg/ml) préparée à partir d'une solution mère de N-acétylglucosamine (0,5 mg/ml). L'activité spécifique est exprimée en mM/min/mg de protéine.

### 2.7.3. Dosage de la lipase

Le dosage de lipase est réalisé selon la méthode de [Tsujita et al. \(1989\)](#) qui utilise le pNPB (p-nitrophényl butyrate) comme substrat. Une fraction aliquote de 20 µl d'extrait enzymatique est additionnée à 18 µl de pNPB (50 mM) et 172 µl de tampon universel ; le mélange est incubé pendant 30 minutes à 37 °C. L'absorbance est mesurée à 405 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (18 µl d'eau distillée remplaçant le pNPB). Une unité de lipase libérera 1 µM de pNP (p- nitrophénol) par minute à 37°C lorsque le p-nitrophényl butyrate est utilisé comme substrat. Une gamme d'étalonnage de p-Nitrophénol (0 - 0,025 µM/ml) est réalisée grâce à une solution mère de p-Nitrophénol (0,05 M/ml). L'activité spécifique de lipase est exprimée en µM/min/mg de protéine.

### 2.7.4. Dosage de la protéase

L'activité protéasique est dosée selon la méthode décrite par [Garcia-Carreno & Haard \(1993\)](#) utilisant la caséine comme substrat. Le mélange réactionnel est : 100 µL d'extrait enzymatique, 100 µl de tampon universel et 200 µl de solution de caséine (1%) dans le tampon Phosphate salin (PBS) à pH 7,0. Le mélange est incubé à 37°C pendant 1 h. La réaction est ensuite stoppée par addition de 800 µl d'acide trichloroacétique (TCA) à 5%, permettant la précipitation des protéines. Le mélange est centrifugé à 8000 trs pendant 15 min. La lecture des absorbances est

effectuée à 280 nm dans des cuves en quartz. L'activité enzymatique est déterminée grâce à une gamme étalon de tyrosine (0 - 2 mM ml) préparée à partir d'une solution mère de tyrosine (10 mM). L'activité spécifique des protéases est exprimée en mM/min/mg de protéine.

## 2.8. Dosage des biomarqueurs enzymatiques

Les adultes témoins et traités de *R. dominica* sont placés dans des tubes Eppendorf contenant 1 ml de tampon phosphate et broyés. Après centrifugation à 5000 tours/min pendant 10 min, le surnageant obtenu est utilisé pour le dosage des biomarqueurs enzymatiques (ALT, AST, ALP, LDH).

### 2.8.1. Alanine Aminotransférase (ALT)

Alanine aminotransférase (ALT) ou Glutamate pyruvate transaminases (TGP) catalyse le transfert réversible de groupement aminé de l'alanine à l'2-Oxoglutarate formant le glutamate et pyruvate. Le dosage a été effectué selon la fiche technique BIOLABO. C'est une méthode optimisée par [Henry et al. \(1960\)](#) et [Bergmeyer et al. \(1978\)](#), elle est Conforme aux recommandations de l'[IFCC \(1986\)](#). Cette technique consiste à additionner 100µl de surnageant à 1ml de réactif de travail [R2, dissout dans le tampon ; R1] (Fig. 10). Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde 340 nm pendant 3 minutes.



**Figure 10.** Kit de TGO (Photo personnelle).

### 2.8.2. Dosage de l'Aspartate Aminotransférase (AST)

L'aspartate aminotransférase (AST) appelée aussi Transaminase glutamate oxaloacétate (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au 2-Oxoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH, H<sup>+</sup> ([Tietz, 1999](#)). Le dosage est réalisé selon la

fiche technique BIOLABO. C'est une méthode optimisée par [Henry et al. \(1960\)](#), et elle est conforme aux recommandations de l'IFCC (1986).

Cette technique consiste à additionner 100µl de surnageant à 1ml de réactif de travail [R2 dissout dans le tampon ; R1] (Fig. 11). Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde 340 nm pendant 3 minutes.



**Figure 11.** Kit de TGP (Photo personnelle).

### 2.8.3. Dosage de la Phosphatase alcaline (PAL)

Le dosage est réalisé selon la fiche technique BIOLABO. C'est une méthode optimisée par [Henry et al. \(1960\)](#), et elle est conforme aux recommandations de l'IFCC (1986). C'est une méthode optimisée basée sur les recommandations de la DGKC (Société allemande de chimie clinique, 1972) et de la SCE (Société scandinave de chimie clinique). En milieu alcalin, les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du p-nitrophényl phosphate en p-nitrophénol et phosphate.

Cette technique consiste à additionner 100µl de surnageant à 1ml de réactif de travail [R2 dissout dans le tampon ; R1] (Fig. 12). Les absorbances sont lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde 405 nm pendant 3 minutes.



**Figure 12.** Kit de PAL (Photo personnelle).

#### 2.8.4. Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH)

L'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) a été mesurée à l'aide d'un kit de test de BIOLABO (France) (Fig. 13). L'essai a été effectué avec 200  $\mu$ l de surnageant ajouté à 1000  $\mu$ l de tampon de substrat plus un coenzyme. La lecture des absorbances se fait à une longueur d'onde de 340 nm pendant deux minutes.



**Figure 13.** Kit de LDH (Photo personnelle).

### 2.9. Les analyses statistiques

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

*RESULTATS*

### III. RESULTATS

#### 3.1. Essai insecticide du Menthol

##### 3.1.1. Toxicité par ingestion

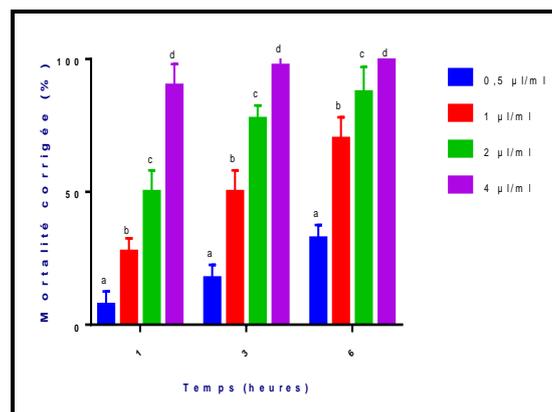
Après un test de screening, différentes concentrations du Menthol (0,5 ; 1 ; 2 et 4  $\mu\text{l/ml}$ ) ont été appliquées sur les adultes de *R. dominica* par ingestion. Des séries témoins sont réalisées en parallèles. Aucune mortalité n'a été observée dans les séries témoins.

Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité par ingestion varient de 7,5% à 1h jusqu'à 32,5% à 6h pour la dose la plus faible (0,5  $\mu\text{l/ml}$ ) et de 90% à 1h jusqu'à 100% à 6h pour la plus forte dose (4  $\mu\text{l/ml}$ ) (Fig. 14).

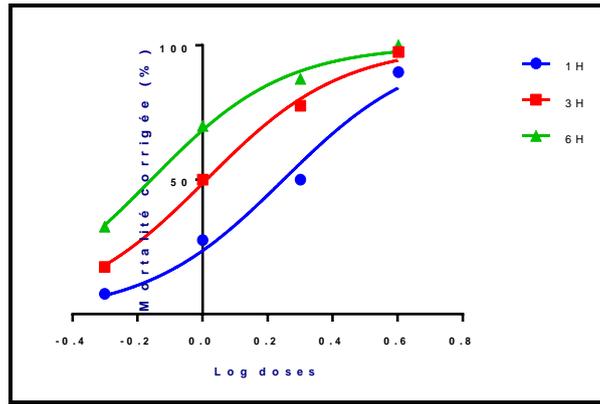
Ces mortalités augmentent d'une façon significative en fonction des doses appliquées et du temps après traitement chez *R. dominica* traité par ingestion à 1h ( $F_{3,12} = 109,3$  ;  $p < 0,0001$ ), 3h ( $F_{3,12} = 136,2$  ;  $p < 0,0001$ ), et 6h ( $F_{3,12} = 75,27$  ;  $p < 0,0001$ ).

Les résultats montrent que le Menthol appliqué par ingestion exerce une activité insecticide avec une relation dose-réponse à l'égard de *R. dominica*. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 4 groupes de moyennes à 1h, 3h et 6h.

La courbe dose-réponse exprimant le pourcentage des mortalités en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig. 15) a permis l'estimation des concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (Tableau 5).



**Figure 14.** Toxicité du Menthol appliqué par ingestion ( $\mu\text{l/ml}$ ) sur les adultes de *R. dominica* à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n = 3$  répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.



**Figure 15.** Effet du Menthol appliqué par ingestion sur les adultes de *R. dominica* à différentes périodes : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

**Tableau 5.** Efficacité du Menthol appliqué sur les adultes de *R. dominica* : analyse des probits.

Mode d'application	Temps (heures)	R <sup>2</sup>	HillSlope	CL <sub>25</sub> (µl/ml) IC (95%)	CL <sub>50</sub> (µl/ml) IC (95%)
Ingestion	1	0,97	2,05	<b>1,03</b> (0,46 - 1,79)	<b>1,77</b> (1,15 - 2,73)
	3	0,99	2,09	<b>0,60</b> (0,44 - 0,77)	<b>1,02</b> (0,84 - 1,23)
	6	0,99	2,12	<b>0,41</b> (0,27 - 0,53)	<b>0,69</b> (0,56 - 0,83)

### 3.1.2. Toxicité par fumigation

Après un test de screening, différentes concentrations de Menthol (5, 10, 20 et 40 µl/l d'air) ont été appliquées sur les adultes de *R. dominica* par fumigation. Des séries témoins sont réalisées en parallèles. Aucune mortalité n'a été observée dans les séries témoins.

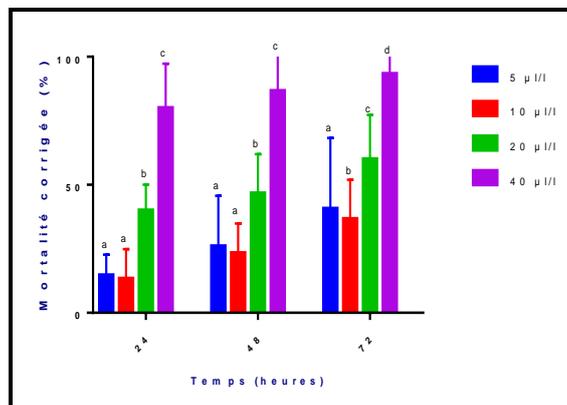
Les mortalités corrigées enregistrées au cours des tests de toxicité par fumigation varient de 7,5% à 1h jusqu'à 32,5% à 6h pour la dose la plus faible (5 µl/ml) et de 90% à 1h jusqu'à 100% à 6h pour la plus forte dose (40 µl/ml).

Les mortalités enregistrées par fumigation augmentent de façon significative en fonction des doses appliquées et du temps après traitement chez *R. dominica* à 1h ( $F_{3,8}=85,78$  ;  $p<0,0001$ ), 3h ( $F_{3,8}=96,53$  ;  $p<0,0001$ ) et à 6h ( $F_{3,8}= 136$  ;  $p<0,0001$ ).

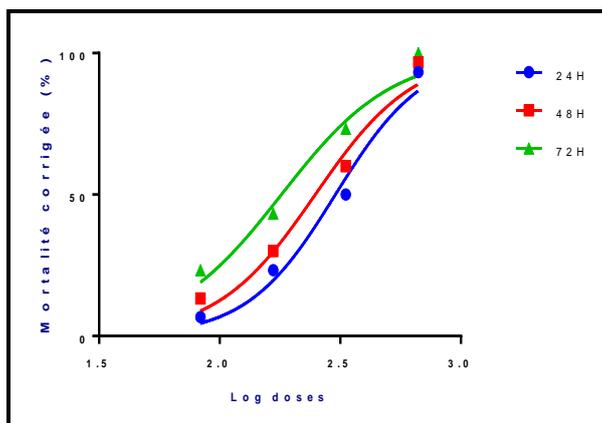
Les résultats montrent que le Menthol appliqué par fumigation exerce une activité insecticide avec une relation dose-réponse à l'égard de *R. dominica*. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 3 groupes de moyennes à 24h, 48h et 4 groupes de moyennes à 72h.

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des doses appliquées (Fig.17) a permis l'estimation des concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le HillSlope (Tableau 6).

De plus, on note que le Menthol appliqué par ingestion est plus toxique par rapport à la fumigation.



**Figure 16.** Toxicité du Méthol appliqué par fumigation (µl/l d’air) sur les adultes de *R. dominica* à différentes périodes : Mortalité corrigée (%) ( $m \pm SEM$ ,  $n = 3$  répétitions de 10 individus chacune) : test HSD de Tukey.



**Figure 17.** Effet du Méthol appliqué par fumigation sur les adultes de *R. dominica* à différentes périodes : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

**Tableau 6.** Efficacité du Méthol appliqué sur les adultes de *R. dominica* : analyse des probits.

Mode d’application	Temps (heures)	R <sup>2</sup>	Hill Slope	CL <sub>25</sub> (µl/l) IC (95%)	CL <sub>50</sub> (µl/l) IC (95%)
Fumigation	24	0,97	2,36	<b>189,9</b> (87,54 - 320,8)	<b>302</b> (197 - 453,7)
	48	0,97	2,12	<b>148,5</b> (57,45 - 279,3)	<b>249,1</b> (154 - 387,9)
	72	0,97	1,87	<b>100,4</b> (29,44 - 181,9)	<b>72,01</b> (12,52 - 185,90)

### 3.2. Effet répulsif du Menthol

Les résultats du pouvoir répulsif de Menthol à l'égard des adultes de *R. dominica* sont présentés dans le Tableau 7. Le pourcentage de répulsion marque une augmentation en fonction des concentrations appliquées. Le fort taux de répulsion (93,33%) a été observé à 30min avec la plus forte concentration (20µl/ml). Ces pourcentages diminuent avec le temps d'exposition et augmentent avec les concentrations appliquées.

Par ailleurs, le Menthol est classé en catégorie 5.

**Tableau 7.** Pourcentage (PR) et classe (CR) de répulsion du Menthol sur les adultes de *R. dominica*.

Concentrations	Temps	PR%	CR
5µl/ml	15min	33,33 ± 8,88	II
	30min	40,00 ± 13,33	III
	1h	26,66 ± 8,88	II
	2h	20,00 ± 0,00	II
	3h	13,33 ± 8,88	I
10µl/ml	15min	53,33 ± 8,88	III
	30min	66,66 ± 8,88	IV
	1h	53,33 ± 8,88	III
	2h	46,66 ± 8,88	III
	3h	60,00 ± 13,33	IV
20µl/ml	15min	86,66 ± 8,88	V
	30min	93,33 ± 8,88	V
	1h	86,66 ± 8,88	V
	2h	66,66 ± 8,88	IV
	3h	60,00 ± 13,33	IV

### 3.3. Effet du Menthol sur les enzymes digestives

Les adultes de *R. dominica* ont été traités par ingestion avec deux concentrations létales (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>). Les effets du Menthol ont été évalués sur l'activité spécifique de quatre enzymes digestives : α-amylase, lipase, protéase et chitinase.

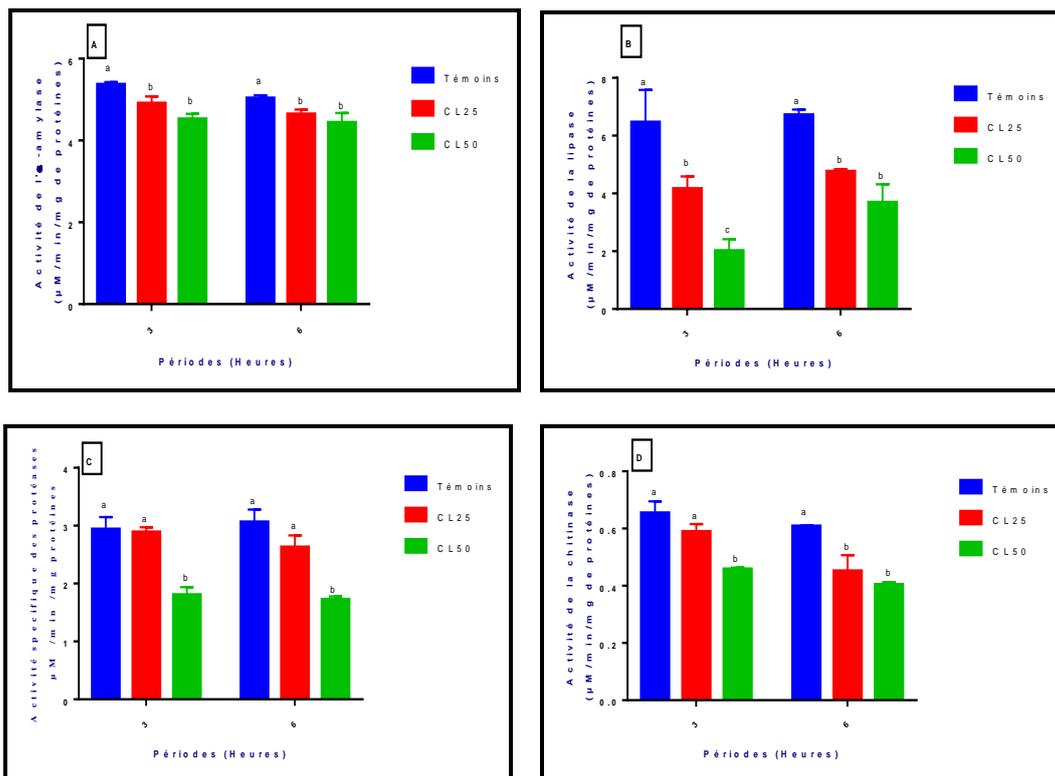
En ce qui concerne l'activité d'α-amylase, l'application du Menthol a induit une diminution significative chez les traités (F<sub>5,12</sub>= 18,49 : p<0,0001) par rapport aux témoins. Aucun effet dose n'a été signalé (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> : p>0,05) au cours de cette période. Le test HSD de Tukey, met en évidence de 2 groupes de moyennes à 3h et 6h, un groupe témoins et un second groupe constitué des traités (Fig. 18A).

Les résultats mentionnés dans la Figure 18B, montrent une diminution significative de l'activité de la lipase chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> (F<sub>5,12</sub>= 27,79 : p<0,0001). Un effet dose (CL<sub>25</sub>

vs CL<sub>50</sub> : p=0,0070) a été constaté seulement à 3h. Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes à 3h, chacun étant constitué d'une série et 2 groupes à 6h, un groupe formé des témoins et un deuxième composé des traités.

Par ailleurs, les résultats du dosage de la protéase révèlent une diminution significative chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> ( $F_{5,12}= 39,75 : p<0,0001$ ) par rapport aux témoins. Un effet dose a été constaté à 3h et à 6h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> : p<0,0001). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes à 3h et à 6h, un groupe formé des témoins et des traités à la CL<sub>25</sub>, et un second groupe constitué des traités à la CL<sub>50</sub> (Fig. 18C).

Enfin l'application du Menthol provoque une diminution significative de l'activité de la chitinase chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> ( $F_{5,12}= 34,18 : p<0,0001$ ). Un effet dose (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> : p=0,0021) a été constaté à 3h. Par contre, aucun effet dose n'a été signalé (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> : p>0,05) à 6h (Fig. 18D). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes à 3h et à 6h.



**Figure 18.** Effet du menthol (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) sur l'activité enzymatique de l'α- amylase (A), lipase (B), protéase (C) et chitinase (D) chez les adultes de *R. dominica* à 3h et 6h après traitement (m ± SEM, n=3 répétitions, comportant chacune 10 individus).

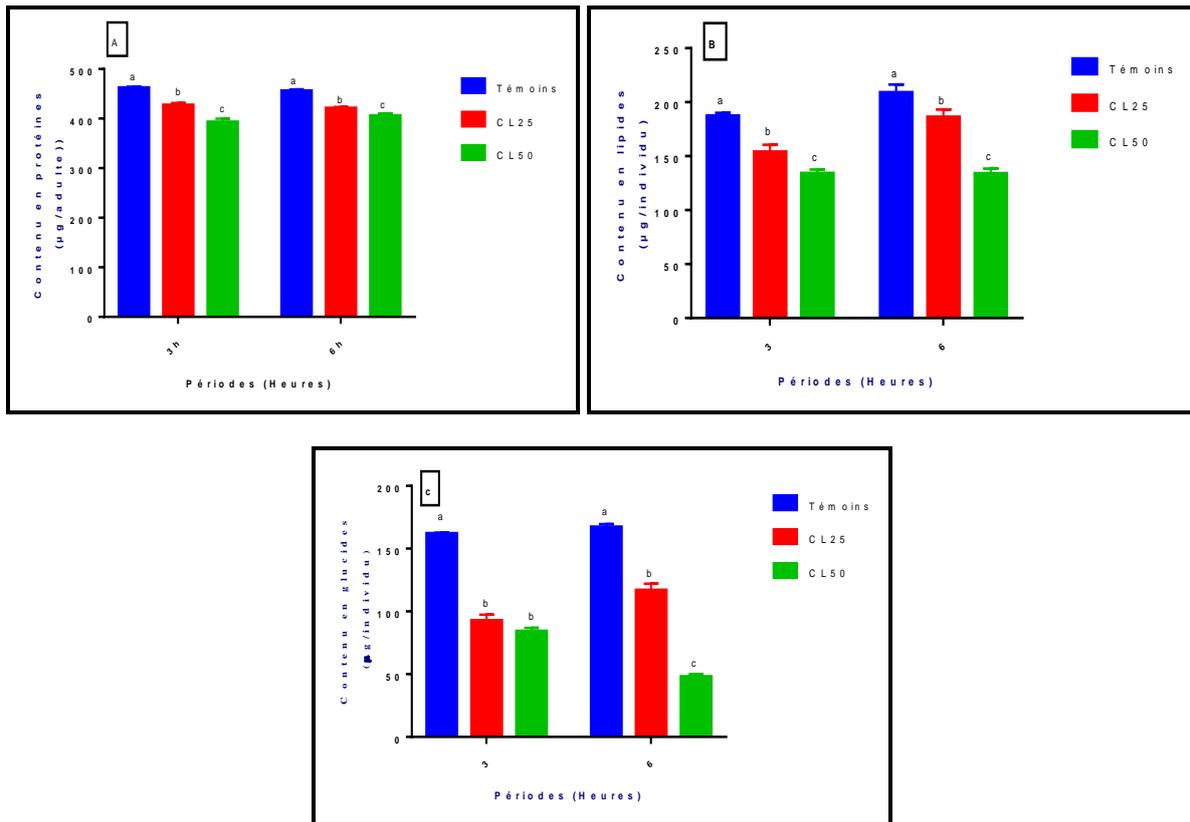
### 3.4. Effet du menthol sur la composition biochimique

Le Menthol a été appliqué par ingestion sur les adultes de *R. dominica* avec deux concentrations létales (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>). Ses effets ont été évalués sur la composition biochimique (réserves énergétiques et protéines) de cette espèce à 3h et 6h après traitement.

D'après les résultats représentés dans la Figure 19A, on note une diminution significative du contenu en protéines totales après traitement avec les deux concentrations appliquées ( $F_{5,12}=106,1$  ;  $p<0,0001$ ). Un effet dose a été constaté à 3h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p<0,0001$ ) et un effet dose à 6h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p=0,0132$ ). Le test HSD de Tukey met en évidence 3 groupes de moyennes à 3h et à 6h, chacun étant composé d'une série.

Les résultats mentionnés dans la Figure 19B, montrent une diminution significative du contenu en lipides chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> ( $F_{5,12}= 537,6$  :  $p<0,0001$ ) avec un effet dose à 3h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p=0,0132$ ) et à 6h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p<0,0001$ ). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes à 3h et à 6h, chacun étant constitué d'une série.

Les résultats du dosage des glucides révèlent une diminution significative chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> ( $F_{5,12}= 85,77$  :  $p<0,0001$ ) par rapport aux témoins, avec un effet dose à 6h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p<0,0001$ ). Le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes à 3h et 3 groupes à 6h (Fig. 19C).



**Figure 19.** Effet du Menthol (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) appliqué par ingestion sur le contenu en protéines (A), lipides (B) et glucides (C) chez les adultes de *R. dominica* à 3h et 6h après traitement (m ± SEM, n=3 répétitions, comportant chacune 10 individus).

### 3.5. Effet du menthol sur les biomarqueurs enzymatiques

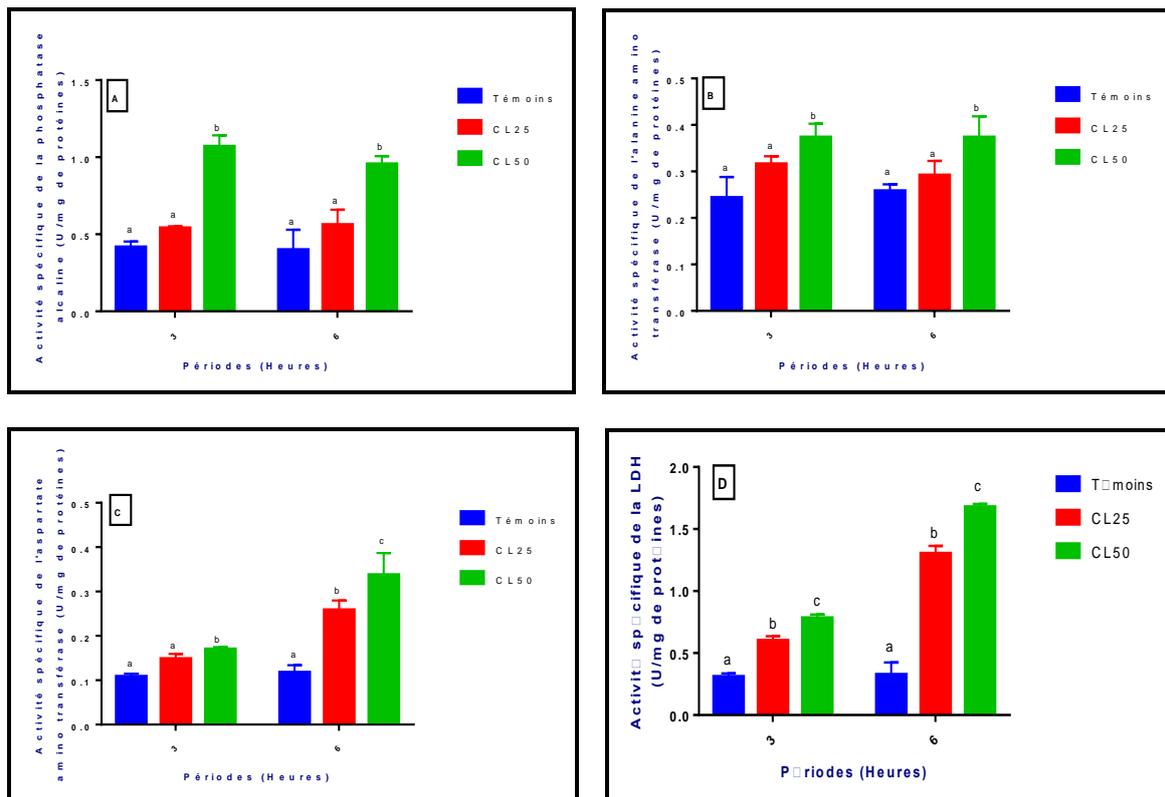
Les adultes de *R. dominica* ont été traités par ingestion avec deux concentrations létales du Menthol (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) et ses effets ont été évalués sur l'activité spécifique de quatre biomarqueurs enzymatiques : Phosphatase alcaline, TGO, TGP et LDH.

Les résultats mentionnés dans la Figure 20A, montrent une augmentation significative de l'activité de la phosphatase alcaline chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> ( $F_{5,12} = 40,35$  :  $p < 0,0001$ ). Un effet dose a été constaté à 3h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p = 0,0132$ ) et à 6h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p = 0,0005$ ). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 2 groupes à 3h et à 6h.

L'application du Menthol a induit une augmentation significative de l'activité de la TGO chez les traités à la CL<sub>25</sub> et la CL<sub>50</sub> ( $F_{5,12} = 8,888$  :  $p = 0,0010$ ). Un effet dose a été signalé à 3h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p = 0,0093$ ) et à 6h (CL<sub>25</sub> vs CL<sub>50</sub> :  $p = 0,0092$ ). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence de 2 groupes à 3h et à 6h (Fig. 20B).

Une augmentation significative de l'activité de la TGP a été observée après application du Menthol sur les adultes de *R. dominica* ( $F_{5,12}= 44,17 : p<0,0001$ ). Un effet dose a été signalé à 3h ( $CL_{25}$  vs  $CL_{50} : p=0,0062$ ) et à 6h ( $CL_{25}$  vs  $CL_{50} : p=0,0134$ ) (Fig. 20C).

L'activité de la LDH marque une augmentation chez les traités à la  $CL_{25}$  et la  $CL_{50}$  ( $F_{5,12}= 324,1 : p=0,0119$ ) avec un effet dose à 3h ( $CL_{25}$  vs  $CL_{50} : p=0,0132$ ) et à 6h ( $CL_{25}$  vs  $CL_{50} : p<0,0001$ ). Le classement des moyennes par le test HSD de Tukey, met en évidence 3 groupes à 3h et à 6h, chacun étant constitué d'une série (Fig. 20D).



**Figure 20.** Effet du Menthol ( $CL_{25}$  et  $CL_{50}$ ) appliqué par ingestion sur les biomarqueurs enzymatiques : PAL (A), TGO (B) et TGP (C) et LDH (D) chez les adultes de *R. dominica* à 3h et 6h après traitement ( $m \pm SEM$ ,  $n=3$  répétitions, comportant chacune 10 individus).

# *DISCUSSION*

## V. DISCUSSION

### 4.1. Toxicité du Menthol à l'égard de *Rhyzopertha dominica*

La toxicologie est l'étude des effets nocifs d'une substance chimique naturelle ou synthétique sur les organismes vivants. Les tests toxicologiques sont adoptés pour tester la sensibilité des organismes vivants aux traitements appliqués en campagne de lutte (OMS, 1963), ils sont nécessaires pour évaluer les concentrations létales (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>).

L'utilisation traditionnelle des plantes dans la lutte contre les déprédateurs des denrées stockées, et en tant que répulsives des insectes volants a fait preuve de son efficacité. Ces pratiques ont démontré que les huiles essentielles et leurs constituants sont toxiques à l'égard d'un grand nombre d'insectes par contact et par fumigation (Saheb, 2007).

Les HEs sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Cseke *et al.*, 1999). Ces dernières peuvent affecter la croissance, le développement et le comportement des insectes et peuvent agir comme anti-appétant (Hough-Goldstein, 1990 ; Hummelbrunner & Isman, 2001), fumigants, répulsifs (Mason, 1990 ; Watanabe *et al.*, 1993), ou régulateurs de croissance (Abedi *et al.*, 2014a,b ; Lai *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2015; Bezzar-Bendjazia *et al.*, 2016). Elles peuvent remplacer les insecticides classiques et semblent être capables de résoudre les problèmes de l'environnement causés par les pesticides de synthèse (Kim *et al.*, 2003), en raison de leur faible toxicité à l'égard des mammifères, leur disponibilité et leur biodégradabilité (Rajendran & Sriranjini, 2008).

Le taux de pénétration à travers la cuticule, le transport dans les tissus de l'organisme, le métabolisme (Besard *et al.*, 2011) mais aussi la régulation des récepteurs membranaires ou encore les canaux ioniques ciblés par les insecticides peuvent jouer un rôle crucial pour expliquer les différences de sensibilité des insectes aux pesticides (Lavialle-Defaix *et al.*, 2010).

Notre étude a pour but de tester par ingestion et par fumigation, la toxicité d'une molécule bioactive, le menthol à l'égard des adultes de *R. dominica*. Les résultats ont montré une activité insecticide de ce traitement avec une relation dose-réponse et une efficacité de l'ingestion.

De nombreux chercheurs se sont intéressés à l'évaluation des effets insecticides de certaines espèces de plantes médicinales chargées de produits volatils pour la protection des stocks de grains au cours de la dernière décennie (Abou-Taleb *et al.*, 2016). Plusieurs études ont montré l'activité fumigante des HEs contre plusieurs espèces de ravageurs des denrées stockées, telles

que *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais* (Liu *et al.*, 2011), *Rhyzopertha dominica* (Tripathi *et al.*, 2003), *Tribolium castaneum* (Olivero-Verbel *et al.*, 2010), *Callosobruchus chinensis* (Shukla *et al.*, 2011), *Callosobruchus maculatus* (Denloye *et al.*, 2010), *Lasioderma serricorne* (Ebadollahi *et al.*, 2010) et *Sitophilus granarius* (El Makarem *et al.*, 2017). La sensibilité élevée des adultes aux biopesticides appliqués par contact ou par fumigation par rapport aux stades pré-imaginaux, a été également signalée (Koul *et al.*, 2008).

De nombreuses études ont rapporté les activités insecticides des HEs et de leurs composants contre les ravageurs des grains entreposés (Perez *et al.*, 2010 ; Brari & Thakur, 2015). La plupart des travaux ont confirmé que cette activité de ces huiles est en raison de leurs composés (Néo-Isomenthol, Menthone, Carvone, Limonène,  $\beta$ -Ocimène et Dihydrotagétone), qui agissent sur le système nerveux de l'insecte en perturbant les fonctions des systèmes GABAergiques (Bloomquist *et al.*, 2008 ; Tong & Coats, 2012) et aminergiques (Kostyukovsky *et al.*, 2002 ; Enan, 2005) et en inhibant l'acétylcholinestérase (Lopes *et al.*, 2010 ; Abdelgaleil *et al.*, 2015).

Plusieurs constituants des HEs ont prouvé leur potentiel insecticide. Le Limonène est le principal agent actif de l'huile de Citrus responsable de l'activité insecticide (Karr & Coats, 1988 ; Tripathi *et al.*, 2003). Il présente plusieurs avantages tels que sa faible toxicité envers les Mammifères, sa biodégradabilité élevée (Aidi Wannas, 2011), et sa forte toxicité vis-à-vis les ravageurs des denrées stockées. Lee *et al.* (2001) ont montré également la toxicité de ce composé contre une espèce de coléoptère, *Sitophilus oryzae*.

Le potentiel insecticide est trop affecté par l'insecte cible concerné et par l'espèce d'agrumes utilisée (Lota *et al.*, 2000) en raison des variations de la teneur en d-Limonène. Cette toxicité varie d'une espèce à une autre dans le même genre. Les travaux d'Adusei-Mensah *et al.* (2014) ont montré que le *C. aurantifolia* est l'espèce d'agrumes qui présente une activité insecticide la plus élevée avec une CL<sub>50</sub> de 4,54%, suivie de *C. limonum* (6,95%) et *C. sinensis* (17,02%). *C. aurantifolia* contient la concentration la plus élevée de limonène qui pourrait être une raison de son activité toxique (Bourgou *et al.*, 2012). *Citrus limonum* montre une activité insecticide élevée à l'égard de *Sitophilus oryzae* (Jayakumar *et al.*, 2017).

Les travaux de Chang *et al.* (2009) ont montré la toxicité élevée du Trans-anéthole et de l'Estragole par rapport à l'huile de basilic et du Linalool contre *Ceratitis capitata* et *Bactroera cucurbitae*. Par ailleurs, le L-Carvone a manifesté un potentiel insecticide par fumigation contre *Callosobruchus chinensis* après 48 h de traitement (LC<sub>50</sub> = 1,19 ml/l) (Jayaram *et al.*, 2022).

Les travaux de [Jayaram et al. \(2022\)](#) ont montré que la toxicité des HEs des plantes est liée à leurs principaux constituants, tels que le néo-isomenthol et la menthone pour *M. piperita* ; le carvone et le limonène pour *M. spicata*; et l'Ocimène et dihydrotagétone pour *T. minuta*. D'autres composés tels que l'Acétate de menthyle, Menthofurane, 1,8-Cinéole, Limonène et  $\beta$ -Caryophyllène chez *M. piperita* ; 1,8-Cinéole,  $\beta$ -Myrcène et cis-Dihydrocarvone chez *M. spicata* et Z-Tagetone, E-Ocimène chez *T. minuta*, jouent un rôle vital dans l'activité insecticide de leurs huiles essentielles ([Bakkali et al., 2008](#) ; [Miresmailli et al., 2006](#) ; [Kanda et al., 2016](#) ; [Koul et al., 2008](#)). Six principaux monoterpénoïdes des HEs de plantes aromatiques cultivées en Turquie, à savoir le carvacrol, le 1,8-cinéole, le menthol, le  $\gamma$ -terpinène, le terpinène-4-ol et le thymol ont été testés pour leur activité fumigante contre les adultes de *T. confusum* et les larves d'*Ephesia kuehniella*. Les résultats ont montré une variation de l'activité fumigante de ces molécules avec comme constituant plus actif est le carvacrol ([Erler, 2005](#)).

#### 4.2. Effet répulsif du menthol

La répulsion est un mécanisme de défense exercé par les plantes contre les insectes ([Jayakumar et al., 2017](#)). Ce phénomène physiologique peut être utilisé pour lutter contre les dégâts causés par ces insectes ravageurs. Les substances répulsives agissent localement ou à distance empêchant un insecte de voler, d'atterrir ou de piquer un animal ou l'Homme ([Blackwell et al., 2003](#) ; [Nerio et al., 2009](#) ; [Ebadollahi et al., 2013](#)). Cette activité est liée aux principes actifs et aux autres constituants chimiques de l'huile ([Damalas & Eleftherohorinos, 2011](#)).

Nos résultats montrent que le menthol a un pouvoir très répulsif (93,33%) vis à vis des adultes de *R. dominica* après 30min et avec la plus forte concentration (20 $\mu$ l/ml).

Des résultats antérieurs ont révélé le pouvoir répulsif d'une large gamme d'huiles essentielles et de leurs constituants. Plusieurs travaux ont également montré l'activité répulsive de l'azadirachtine vis-à-vis de *R. dominica* avec un taux de répulsion de 81,48% ([Hanif et al., 2016](#)), et de 68,35 % ([Hasni & Zeghba, 2017](#)). De plus, les travaux d'[Ojmelukwe & Adler \(1999\)](#) ont montré l'effet répulsif de plusieurs constituants avec l'efficacité de Zimtaldéhyde (98,53%) par rapport à l'Eugénol (80%), le Thymol (70,39%), l'Hydroxy-anisol (50,37%), le Terpinéol (42,97%) et le Menthol (40,74%) contre *T. confusum*. En outre, les études réalisées au niveau de notre Laboratoire de recherche ont mis en évidence l'activité répulsive de plusieurs molécules bioactives, telles que le Limonène contre *Trogoderma granarium* ([Abdesmad &](#)

Moumou, 2022), l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), et  $\beta$ -Pinène contre *T. confusum* (Djebaili & Boudjil, 2022) et le Linalool contre *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022).

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

### 4.3. Effet du Menthol sur la composition biochimique

L'efficacité des extraits de plantes contre les insectes a été signalée dans plusieurs travaux (Cetin & Yanikoglu, 2006 ; Negahban *et al.*, 2007 ; Ayvaz *et al.*, 2009 ; El-akhal *et al.*, 2015 ; 2016) aussi bien sur le plan physiologique que biochimique (El-Bermawy & Fattah, 2000 ; Renuga & Sahayaraj, 2009). Donc Il est essentiel d'étudier les modifications de la composition biochimique suite au traitement par les insecticides botaniques, pour évaluer et déterminer leur pouvoir toxique (Sak, 2006).

Les extraits de plantes peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées sur le plan quantitatif par une augmentation ou une diminution des différents métabolites (protéines, carbohydrates, lipides) (Yazdani *et al.*, 2013 ; Dris *et al.*, 2017 ; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017).

#### 4.3.1. Effet sur les protéines

Les protéines sont des constituants nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement des activités vitales des insectes (Yazdani *et al.*, 2014 ; Mojarab-Mahboubkar *et al.*, 2015), car les différentes enzymes qui réalisent les cascades d'activités métaboliques dans les organismes sont principalement des protéines (Preet & Sneha, 2011). Elles assurent diverses fonctions, comme la régulation hormonale et le catabolisme enzymatique, et sont incorporées dans la structure cellulaire en même temps que les glucides et les lipides (Cohen, 2010 ; Sugumaran, 2010).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que l'application du menthol (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) sur les adultes de *R. dominica* par ingestion, induit une perturbation du contenu en protéine en le diminuant.

Des résultats similaires ont été constatés chez *S. granarius* traité par l'huile de *C. limonum* et l'azadirachtine (Guettal, 2021), chez *T. confusum* traité par l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez *T. granarium* traité par le Limonène (Abdesmad & Moumou, 2022). Par contre,

une augmentation du contenu en protéines a été signalée chez *R. dominica* traité à l'azadirachtine (Tine *et al.*, 2017), à l'*Eucalyptus globulus* et à l'*Artemisia herba-alba* (Aref & Valizadegan, 2015) et chez *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022) et *T. confusum* (Lahmar & Benhadda, 2022) traités par le Linalool.

La réduction des protéines est un phénomène fréquent chez les insectes traités par les produits toxiques (Nation *et al.*, 2008), et qui peut être attribuée à un ou plusieurs facteurs, tels que la diminution de leurs synthèse ou augmentation de leur dégradation pour détoxifier les principes actifs présents dans les extraits de plantes ou les HEs (Vijayaraghavan *et al.*, 2010). La dégradation des protéines en acides aminés a pour but de faciliter leur incorporation dans le cycle de Krebs comme acides cétoniques afin de compenser les faibles taux d'énergie causés par le stress (Nath *et al.*, 1997). De plus, la réduction en réserve protéique peut être également due à l'adaptation physiologique de l'insecte à un état de stress causé par les insecticides (Ribeiro *et al.*, 2001).

#### 4.3.2. Effet sur le contenu en glucides

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique) (Nation, 2008). Ils jouent un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steele, 1981) et constituent une source énergétique essentielle.

Nos résultats montrent une réduction significative des niveaux de glucides chez les adultes de *R. dominica* traités par le Menthol par ingestion. Des résultats similaires ont été signalés chez *S. granarius* traité par l'huile de citrus et par l'azadirachtine Guettal (2021), chez *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022) et *T. confusum* (Lahmar & Benhadda, 2022) traités par le Linalool, chez *T. granarium* traité par l'huile de *Citrus limonum* et le limonène (Abdesmad & Moumou, 2022). Par contre, une augmentation de ce composé a été observée chez *T. confusum* traité par l'huile d'*Eucalyptus globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022).

La déplétion du glucose peut être due aux conditions de stress imposées à ces insectes qui ont besoin plus d'énergie pour couvrir les dépenses énergétiques via une induction par des neuropeptides (Yazdani *et al.*, 2014 ; Mojarab-Mahboubkar *et al.*, 2015). Elle peut également être due à une accélération de la glycogénolyse au niveau du corps adipeux, au transport du

glycogène du corps gras à l'hémolymphe en réponse à l'épuisement énergétique lorsque les individus sont exposés à des toxines (Zibae, 2011).

#### 4.3.3. Effet sur le contenu en lipides

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leurs synthèses et stockage vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe surtout lors de la vitellogénèse (Van Hensden & Law, 1989).

Nos résultats ont montré que le traitement des adultes de *R. dominica* par le menthol induit une diminution significative du contenu en lipides. Les mêmes observations ont été faites chez *S. granarius* traité par le citron et l'azadirachtine (Guettal, 2021), chez *R. dominica* (Bouchagra & Farhi, 2022) et *T. confusum* (Lahmar & Benhadda, 2022) traités par le Linalool et chez *T. granarium* traité par l'huile de *Citrus limonum* et le limonène (Abdesmad & Moumou, 2022). Par contre, une augmentation de ce composé a été observée chez *T. confusum* traité par l'huile d'*Eucalyptus globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022).

L'épuisement de ce composant biochimique après traitement est dû au stress induit suite à l'exposition à un insecticide (Sancho *et al.*, 1998 ; Rambabu & Rao, 1994) qui se traduit par une altération de leurs synthèse (Klowden, 2007), à un dysfonctionnement hormonal qui contrôle le métabolisme lipidique (Steele, 1981), à l'utilisation de cette réserve métabolique (Sak *et al.*, 2006), à la formation des lipoprotéines, à la réparation des dommages cellulaires et à l'augmentation de la lipolyse pour fournir de l'énergie (Lohar & Wright, 1993 ; Steele, 1985).

#### 4.4. Effet du Menthol sur les biomarqueurs enzymatiques

Une bonne évaluation de l'impact écotoxicologique des contaminants nécessite souvent une approche multifactorielle utilisant plusieurs marqueurs biologiques. Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire (Badiou, 2007). Diverses enzymes sont couramment utilisées comme biomarqueurs chez de nombreuses espèces (Barata *et al.*, 2007 ; Heylen *et al.*, 2011), telles que PAL, ASAT, et ALAT (Pratt & Kaplan, 2000).

Nos résultats montrent que le menthol entraîne une augmentation significative de l'activité de trois biomarqueurs enzymatiques : PAL, TGO et TGP. Des résultats similaires ont été constatés chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022). L'huile de basilic et de girofle ont augmenté de manière significative l'activité de la TGP, tandis

que l'huile de basilic a augmenté l'activité de la TGO, ce qui indique une synthèse accrue de ces deux enzymes chez le charançon, *S. granarius* (Makarem *et al.*, 2015). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés après application des huiles végétales (Tabassum *et al.*, 1994 ; Abdel-Latif & Al Moajel, 2004). Ender *et al.* (2005) ont montré également une augmentation de l'activité de l'ALT chez les larves de *Galleria mellonella* après traitement au méthyle parathion. Les mêmes observations ont été constatées chez *Eurygaster integriceps* traité par le pyriproxifène (Zibae *et al.*, 2011).

#### 4.5. Effet du Menthol sur un biomarqueur du stress oxydatif (LDH)

Le système de défense antioxydant est présent chez toutes les cellules aérobiques, neutralisant les réactions chimiques intermédiaires produites par voie endogène et/ou le métabolisme des xénobiotiques (Winston & Di Giulio, 1991). L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un produit toxique ou un polluant. Ces deux types de réponse dépendent de la durée d'exposition d'une part et de la sensibilité de l'espèce exposée d'autre part (Sifi, 2009). L'induction du système de défense antioxydant peut être considérée comme une adaptation de l'organisme à un environnement pollué (Droge, 2002).

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme qui contribue à faciliter le processus de transformation du sucre en énergie, afin que les cellules puissent les utiliser. Elle est aussi responsable de la régénération du NAD<sup>+</sup> à partir du NADH pour assurer la continuation du cycle glycolytique (Gagnon & Holdway, 1998). Les niveaux de la LDH sont utilisés chez les espèces étudiées dans le domaine toxicologique et dans l'indication de l'exposition à un stress chimique (Das *et al.*, 2004) pour le diagnostic des lésions cellulaires et tissulaires (Gupta *et al.*, 1991). La LDH est également utilisée comme biomarqueur de pollution (Long *et al.*, 2003).

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que la molécule bioactive, le menthol a provoqué une augmentation significative de l'activité de la LDH chez *R. dominica*. Selon Halaimia & Chachoui (2017). L'application de l'AZAD sur les adultes de *R. dominica* a provoqué une augmentation de l'activité de la LDH, au cours de la période testée. Cette augmentation peut être expliquée par le stress chimique induit par l'insecticide. De plus, les travaux de Debab & Mesloub (2022) ont montré une induction du stress oxydant traduite par une augmentation de la LDH chez *T. confusum*. Par contre une diminution de ce biomarqueur a été signalée chez *B. mori* traité par deux organophosphorés, le fénitrothion et l'éthion (Nath,

2000), chez *Culex fatigans* traité au malathion et au pyréthriinoïde (Azmi *et al.*, 2002) et chez *Blattella germanica* traitée à l'indoxacarbe et au Spinosad (Maiza *et al.*, 2013).

#### 4.6. Effet du Menthol sur les enzymes digestives

La digestion est la décomposition des macromolécules ingérées en petits molécules absorbables et utilisables par les cellules, un processus qui se déroule par le biais d'un ensemble d'enzymes, pour cela, toute perturbation de ces derniers va empêcher l'insecte à accomplir cette fonction biologique (Zibae & Bandani, 2010). Dans ce cadre, notre étude s'intéresse à l'évaluation de l'effet d'une molécule bioactive, le Menthol sur quatre enzymes indispensables pour la digestion : protéase, lipase, chitinase et  $\alpha$ -amylase. Les résultats ont mis en évidence une perturbation de l'activité de ces enzymes chez les adultes de *R. dominica* par rapport aux témoins avec une relation dose-réponse.

Les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des protéines, en scindant la liaison peptidique qui lie deux acides aminés dans une chaîne peptidique (Pascual-Ruis *et al.*, 2009). Elles peuvent être altérées par les insecticides botaniques qui interfèrent la production de certains types de protéases et les empêchent de digérer les protéines ingérées (Johnson *et al.*, 1990 ; Senthil-Nathan *et al.*, 2006). Nos résultats ont révélé une diminution de l'activité de la protéase chez *R. dominica* suite au traitement avec le Menthol. Des résultats similaires ont été signalés chez *T. confusum* traité par l'HE d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022), chez *R. dominica* traité par l'huile de *Lavandula angustifolia* (Sayada *et al.*, 2021), chez les larves de *T. granarium* traitées par l'HE d'*E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021), et chez *R. dominica* traité par *Schinus molle* (Soltani & Abes, 2022).

Les lipases sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons externes des molécules de graisses. Bien qu'il existe quelques études sur les lipases digestives des insectes, leur activité est affectée de manière significative par l'utilisation des insecticides botaniques (Senthil Nathan *et al.*, 2006). Nos résultats ont révélé une diminution de l'activité de la protéase chez *R. dominica* suite au traitement avec le Menthol. Zibae *et al.* (2009) ont noté une inhibition de l'activité lipase dans l'intestin moyen de *Chilo suppressalis* (Lepidoptera : Pyralidae) après traitement à l'extrait d'*A. annua*. Senthil Nathan *et al.* (2006) ont montré que le traitement de *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera : Pyralidae) par l'azadirachtine diminue fortement l'activité de la lipase dans l'intestin moyen. Les larves de *T. granarium* ont été traitées par fumigation avec l'HE d'*E. globulus* marquent une diminution de l'activité de la lipase (Brahmi & Yousfi, 2021).

Les chitinases sont les enzymes qui hydrolysent les liaisons glycosidiques des molécules de chitine, plus précisément, elles hydrolysent les liaisons  $\beta$ -(1-4) des résidus de N-acétyl- $\beta$ -D -glucosamine (Merzendorfer & Zimoch, 2003), et interviennent dans la formation et la dégradation de la membrane péritrophique qui protège l'épithélium intestinal (Shen & Jacobs-Lorena, 1997). Nos résultats ont révélé une diminution de l'activité de la chitinase chez *R. dominica* après exposition au Menthol. Des résultats similaires ont été rapportés chez les larves et les adultes de *D. melanogaster* traités avec l'azadirachtine (Bezzar, 2016), chez les larves de *T. granarium* traitées par l'HE d'*E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021), chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022) et chez *R. dominica* traité par *Schinus molle* (Soltani & Abes, 2022).

L' $\alpha$ -amylase est l'enzyme clé qui catalyse l'hydrolyse de la chaîne  $\alpha$ -1-4 glycane de l'amidon et du glycogène qui sont les formes stockées de carbohydrates (Terra & Ferreira, 2005). Nos résultats ont montré une diminution de l'activité de l' $\alpha$ -amylase chez *R. dominica* traité avec le Menthol. Les mêmes observations ont été constatées chez *D. melanogaster* traitée avec l'azadirachtine (Bezzar, 2016), chez *T. granarium* traitée par l'HE d'*E. globulus* (Brahmi & Yousfi, 2021), chez *T. confusum* traité par l'huile d'*E. globulus* et l'Eucalyptol (Debab & Mesloub, 2022) et chez *R. dominica* traité par *Schinus molle* (Soltani & Abes, 2022). En outre, des études ont montré une réduction de l'activité  $\alpha$ -amylase sous l'effet de l'azadirachtine chez *P. americana* (Paranagma *et al.*, 2001), chez *P. interpunctella* (Rharrabe *et al.*, 2008), chez *Glyphodes pyloalis* (Khosravi & Sendi, 2013) et chez *Tribolium castaneum* (Sami, 2014).

*CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES*

## V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

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

Les essais toxicologiques réalisés par fumigation et par ingestion ont permis de déterminer les concentrations létales (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>). Le Menthol appliqué présente un effet insecticide avec une relation dose-réponse. De plus, on note que l'ingestion est le mode d'application le plus efficace par rapport à la fumigation. Le test de répulsion réalisé a permis de mettre en évidence le pouvoir répulsif du Menthol à l'égard de cette espèce.

L'étude de la composition biochimique a montré que cette molécule appliquée par ingestion, induit un épuisement des réserves énergétiques et une perturbation du contenu en protéines chez les adultes de *R. dominica*.

Le Menthol appliqué (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) sur les adultes de *R. dominica* semble affecter relativement les biomarqueurs enzymatiques par une augmentation de la phosphatase alcaline, la Glutamate-Pyruvate Transaminase (TGP) et la Glutamate-Oxaloacétate-Transaminase (TGO).

Les activités spécifiques des enzymes digestives chez les adultes *R. dominica* sont également perturbées sous l'effet du Menthol. Les résultats révèlent une diminution significative de l'activité de l' $\alpha$ -amylase, la chitinase, la lipase et la protéase.

Enfin, l'évaluation d'un biomarqueur du stress oxydant, indique que le Menthol induit une augmentation de l'activité de la LDH chez les traités comparativement aux témoins.

En guise des perspectives, nous recommandons de :

- ❖ Evaluer l'effet de cette molécule sur le potentiel reproducteur de *R. dominica* ;
- ❖ Déterminer l'effet du Menthol sur le développement de cette espèce ;
- ❖ Déterminer la persistance de cette molécule et son effet combiné avec d'autres molécules bioactives ;
- ❖ En dernier lieu, nous suggérons des essais pilotes dans les entrepôts de stockage afin de mieux évaluer l'efficacité de ce traitement in situ.

*RESUMES*

## VI. RESUME

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

Les essais toxicologiques réalisés par fumigation et par ingestion ont révélé l'activité insecticide de cette molécule avec une relation dose-réponse. De plus, le Menthol appliqué par ingestion est plus efficace par rapport à la fumigation. Le test de répulsion a permis de mettre en évidence le pouvoir répulsif de ce traitement à l'égard de *R. dominica*.

Par ailleurs, l'étude biochimique montre que le traitement provoque une diminution du contenu en protéines et des réserves énergétiques. De plus, il perturbe l'activité des biomarqueurs enzymatiques (PAL, TGO et TGP) chez les adultes de *R. dominica*.

Le Menthol perturbe également l'activité des enzymes digestives chez les adultes traités comparativement aux témoins. En effet, le traitement réduit l'activité spécifique de l' $\alpha$ -amylase, de la chitinase, de la protéase et de la lipase.

Finalement, le biomarqueur du stress oxydatif déterminé chez les adultes traités (CL<sub>25</sub> et CL<sub>50</sub>) par le Menthol a révélé une augmentation de l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH).

**Mots clés :** Menthol, *Rhyzopertha dominica*, Toxicité, Répulsion, Réserves énergétiques, Enzymes digestives, Biomarqueurs enzymatiques.

**ABSTRACT**

This present study aims to evaluate the insecticidal activity of a bioactive molecule, Menthol, against a pest species, *Rhyzopertha dominica*. Effects were examined on mortality, enzyme biomarkers (PAL, TGO, and TGP), nutritional reserves, digestive enzymes, and oxidative stress biomarker.

Toxicological tests revealed the insecticide activity of this treatment with a dose-response relationship. In addition, ingestion is the most effective mode of application compared to fumigation. The repulsion test demonstrated the repellence activity of this treatment against *R. dominica*.

Moreover, the biochemical study shows that the treatment decreases the protein content and the energy reserves. In addition, it disrupts the activity of enzyme biomarkers (PAL, TGO and TGP) in *R. dominica* adult.

Menthol also disrupts the activity of digestive enzymes in treated adults compared to controls. Indeed, the treatment reduces the specific activity of  $\alpha$ -amylase, chitinase, protease and lipase.

Finally, the biomarker of oxidative stress determined in adults treated (LC<sub>25</sub> and LC<sub>50</sub>) with Menthol revealed an increase in the activity of lactate dehydrogenase (LDH).

**Keywords:** Menthol, *Rhyzopertha dominica*, Toxicity, Repulsion, Energy reserves, Digestive enzymes, Enzymatic biomarkers.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم نشاط المبيد الحشري للجزيء النشط بيولوجيًا، المنثول، ضد نوع من الآفات *Rhyzopertha dominica*. تم فحص التأثيرات على معدل الوفيات، المؤشرات الحيوية للإنزيمات (PAL، TGO، و TGP)، الاحتياطيات الغذائية، الإنزيمات الهاضمة، المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي.

كشفت اختبارات السموم التي أجريت عن طريق التبخير والابتلاع عن نشاط مبيد الحشرات لهذا الجزيء مع علاقة الجرعة والاستجابة. بالإضافة إلى ذلك، فإن استخدام المنثول عن طريق الابتلاع يكون أكثر فعالية مقارنة بالتبخير. أظهر اختبار التنافر القوة الطاردة لهذا العلاج ضد *R. dominica*.

كما تُظهر الدراسة البيوكيميائية أن العلاج يتسبب في انخفاض محتوى البروتين واحتياطيات الطاقة. بالإضافة إلى ذلك، فإنه يعطل نشاط المؤشرات الحيوية للإنزيم (PAL و TGO و TGP) عند البالغين *R. dominica*.

يعطل المنثول أيضًا نشاط الإنزيمات الهضمية لدى البالغين المعالجين مقارنةً بالضوابط. في الواقع، يقلل العلاج من النشاط المحدد لـ  $\alpha$ -amylase و chitinase و protease و lipase.

أخيرًا أظهرت المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي عند البالغين المعالجين ( $LC_{25}$  و  $LC_{50}$ ) بالمنثول زيادة في نشاط LDH.

**الكلمات المفتاحية:** المنثول، *Rhyzopertha dominica*، السمية، التنافر، احتياطيات الطاقة، الإنزيمات الهضمية، المؤشرات الحيوية الأنزيمية .

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

## VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## A

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

**Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Shawir, M. S. & Abou-Taleb, H. K. (2016).** Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Journal of Pest Science*. 89(1): 219-229.

**Abdel-Latif, A. M. & Al-Moaiel, N. H. (2004).** Some biochemical effects of natural mint oil on some species of stored grain pests. *Mansoura Journal of Agricultural Sciences*. 9(9).

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

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

**Abedi, Z., Saber, M., Vojoudi, S., Mahdavi, V., Parsaeyan, E. & Ottea, J. (2014b).** Acute, sublethal, and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science*. 14(1):1-9.

**Abou-Taleb, H. K., Mohamed, M. I., Shawir, M. S. & Abdelgaleil, S. A. (2016).** Insecticidal properties of essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Natural Product Research*. 30(6): 710-714.

**Adusei-Mensah, F., Inkum, E., Mawuli Agbale, C. & Eric, A. (2014).** Comparative Evaluation of the insecticidal and insect repellent properties of the volatile oils of *Citrus aurantifolia* (Lime), *Citrus sinensis* (Sweet Orange) and *Citrus limon* (Lemon) on *Camponotus nearcticus* (Carpenter Ants). *International Journal of Novel Research*. In interdisciplinary Studies. 1: 1-25.

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

**Aidi Wannes, W. (2011).** Caractérisation biochimique des différents organes de deux variétés de myrte : *Myrtus communis* var. *baetica* et *Myrtus communis* var. *italica* et évaluation de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat en Biologie, Université de Sfax, Faculté des Sciences de Sfax, 212 p.

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

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

**Appert, J. (1985).** Le stockage des produits vivriers et semenciers. v. 1: Degats, pertes et moyens de stockage.-v. 2: Lutte contre les ravageurs, hygiene du stockage.

**Aref, S. P. & Valizadegan, O. (2015).** Fumigant toxicity and repellent effect of three Iranian Eucalyptus species against the lesser grain beetle, *Rhyzopertha Dominica* (F.) (Col.:Bostrichidae). Journal of Entomology and Zoology Studies. 3(2): 198-202.

**Aryani, D. S. & Auamcharoen, W. (2016).** Repellency and contact toxicity of crude extracts from three Thai plants (Zingiberaceae) against maize grain weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulusky) (Coleoptera : Curculionidae). Journal of Biopesticides. 9(1): 52-62.

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

**Azmi, M. A., Ahmad, I., Naqvi, S.N.H. & Akhtar, K. (2002).** Level of lactate dehydrogenase (LDH) in resistant and susceptible strains of *culicine mosquitoes* of the Karachi Region after treatment with DDT, malathion and cyfluthrin. Turk. Journal of Zoology. 26(1): 97-100.

## B

**Badiou, A. (2007).** Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'abeille, *Apis mellifera*. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, FRA.

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*. 46(2): 446-475.
- Barata, C., Damasio, J., López, M. A., Kuster, M., De Alda, M. L., Barceló, D. & Raldúa, D. (2007).** Combined use of biomarkers and in situ bioassays in *Daphnia magna* to monitor environmental hazards of pesticides in the field. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 26(2) : 370-379.
- Beenackers, A. M., Van der Horst, D. J. & Van Marrewijk, W. J. (1985).** Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. *Progress in Lipid Research*. 24(1): 19-67.
- Benlameur, Z. (2016).** Les ravageurs des denrées stockées et leur impact sur la santé humaine. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger. 133p.
- Bergmeyer, H. U., Horder, M. & Rey, J. (1986).** Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic enzymes. Part 3: IFCC method for alanine aminotransferase. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*. 24: 481-495.
- Bernfeld, P. (1955).** Amylases, alpha and beta. *Methods in enzymology I*, 149-158.
- Besard, L., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G. & Smagghe, G. (2011).** Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest Management Science*. 67(5): 541-547.
- Bezzar-Bendjazia, R., Kilani-Morakchi, S. & Aribi, N. (2016).** Growth and molting disruption effects of azadirachtin against *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(1): 363-368.
- Bezzar, R. (2016).** Effets d'un biopesticide, l'azadirachtine, sur un modèle de référence, *Drosophila melanogaster* (Diptera): Toxicité, Développement et Digestion. Thèse de Doctorat en Sciences. Spécialité : Biologie Animale. Université Larbi Tébessi, Tébessa, 101p.
- Blackwell, A., Stuart, A.E. & Estambale, B.A. (2003).** The repellent and antifeedant activity of oil of *Myrica gale* against *Aedes aegypti* mosquitoes and its enhancement by the addition of salicylic acid. *Proceedings of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 33: 209-214.

**Bloomquist, J. R., Boina, D. R., Chow, E., Carlier, P. R., Reina, M. & Gonzalez-Coloma, A. (2008).** Mode of action of the plant-derived silphinenes on insect and mammalian GABAA receptor/chloride channel complex. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 91(1): 17-23.

**Bouchagra, D & Farhi, F. (2022).** Effets des extraits d'une plante aromatique, la Lavande sur le comportement et la biochimie d'un ravageur des stocks. Mémoire de Master en Ecophysiologie Animale, Université Larbi Tébessi, Tébessa. 50p.

**Bourgou, S., Rahai, F., Ourghemmi, I. & Tounsi, M. (2012).** Changes of peel essential oil composition of four Tunisian Citrus during fruit maturation. *The Scientific World Journal*. 2012: 1-10.

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

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

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

## C

**Caid, H. S., Ecchemmakh, T., Elamrani, A., Khalid, A., Boukroute, A., Miamou, A. & Demandre, C. (2008).** Altérations accompagnant le vieillissement accéléré de blé tendre. *Cahiers Agricultures*. 17(1) : 39-44.

**Camara, A. (2009).** Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) dans les stocks de Riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en Basse-Guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse de doctorat en sciences de l'environnement .Université du Québec. 72p.

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

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

**Chang, C., Kyu Cho, I. & Li, Q. X. (2009).** Insecticidal activity of basil oil, trans-anethole, estragole, and linalool to adult fruit flies of *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *Bactrocera cucurbitae*. *Journal of Economic Entomology*. 102(1): 203-209.

**Cohen, E. (2010).** Chapter 2 - Chitin Biochemistry : Synthesis, Hydrolysis and Inhibition. *Advances in Insect Physiology*. Academic Press. 38: 5-74.

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

## D

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

**Das, P. C., Ayyappan, S., Jena, J. K. & Das, B. K. (2004).** Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture Research*. 35(2). 134-143.

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

**De Carvalho, B.N.C.R., Negrisoli-Junior, A.S., Bernardi, D. & Silveira-Garcia, M. (2013).** Activity of eight strains of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) against five stored product pests. *Experimental Parasitology*. 134: 384-388.

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

**Denloye, A., Makanjuola, W., Teslim, O., Alafia, O., Kasali, A. & Eshilokun, A. (2010).** Toxicity of *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) products from Nigeria against three storage insects. *Journal of Plant Protection Research*. 50 (3): 379-384.

**Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2017).** Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *South African Journal of Botany*. 113: 362-369.

**Droge, W. (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 82(1): 47-95.

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

## E

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

**Ebadollahi, A., Safaralizadeh, M. & Pourmirza, A. (2010).** Fumigant toxicity of *Lavandula stoechas* L. oil against three insect pests attacking stored products. *Journal of Plant Protection Research*. 50(1): 56-60.

**Ebrahimifar, J., Jamshidnia, A., Sadeghi, R. & Ebadollahi, A. (2021).** Repellency of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss essential oil on two major stored-product insect pests without effect on wheat germination. *International Journal of Tropical Insect Science*. 41(1): 217-223.

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

**El-akhal, F., Guemmouh, R., Maniar, S., Taghzouti, K. & Lalami, A. E.O. (2016).** Larvicidal activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* (Lamiaceae) against of the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera :Culicidae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 8(3): 372-376.

**El-Bermawy, S. M. & Fattah, H. (2000).** Changes in protein electrophoretic pattern of *Tribolium confusum* 4th instar larvae after treatment with volatile plant oil (Vetiver). *Journal Egyptian German Society of Zoology*. 31: 167-182.

**El Makarem, H. A., El Kholly, S., Abdel-Latif, A. & Seif, A. (2017).** Effect of some botanical oils on the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera : Curculionidae). The Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology). 13(2): 273- 282.

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

**Ender, I., Ferah, A., Kemal, B. & Ahmet, G. (2005).** Biochemical stress indicators of greater wax moth exposure to organophosphorus insecticides. Journal of Economic Entomology. 98: 358-366.

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

## F

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

**Fleurat-Lessard, F., Andrieu, A. J. & Wilkin, D. R. (1994).** New trends in stored-grain infestation detection inside storage bins for permanent infestation risk monitoring. In Conference Sixth International Working Conference on Stored Product Protection. 17-23.

## G

**Gagnon, M. M. & Holdway, D. (1998).** MFO induction in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during and after exposure to Bass Strait crude oil. Australasian Journal of Ecotoxicology. 4: 29-35.

**Gnanamani, R. & Dhanasekaran, S. (2017).** Efficacy of *azadirachta indica* leaf extract on the biochemical estimation of a lepidopteran pest *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). World Applied Sciences Journal. 35(2): 177-181.

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

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

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

**Gupta, R. C., Goad, J. T. & Kadel, W. L. (1991).** In vivo alterations in lactate dehydrogenase (LDH) and LDH isoenzymes patterns by acute carbofuran intoxication. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 21(2): 263-269.

## H

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

**Hanif, C. M. S., Ul-Hasan, M., Sagheer, M., Saleem, S., Akhtar, S. & Ijaz, M. (2016).** Insecticidal and repellent activities of essential oils of three medicinal plants towards insect pests of stored wheat. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 22(3): 470-476.

**Hasni, H. & Zeghba, R. (2017).** Evaluation de l'effet repulsif de trois huiles essentielles des plantes vis-à-vis de l'insecte des céréales stockées (*Rhyzopertha dominica*). Mémoire de Master. Université de M'sila. 43p.

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

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

**Hossain, S. & Khalequzzaman, M. (2018).** Repellent and oviposition deterrent activity of leaf extracts of *Azadirachta indica* A. Juss., *Persicaria hydropiper* (L.) Spach. And *Vitex negundo*

Linn. against the melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera : Tephritidae). Journal of Entomology and Zoology Studies. 6(2): 2291-2295.

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

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

## I

**IFCC. (1986).** Method for L-Alanine aminotransferase. Journal of clinic chemistry and Clinic Biochemistry. 24 : 481-495.

## J

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

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

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

## K

**Kanda, D., Kaur, S. & Koul, O. (2017).** A comparative study of monoterpenoids and phenylpropanoids from essential oils against stored grain insects: acute toxins or feeding deterrents. Journal of Pest Science. 90(2): 531-545.

**Karr, L. L. & Coats, J. R. (1988).** Insecticidal properties of d-limonene. Journal of Pesticide Science. 13(2): 287-290.

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

**Kheloul, L., Anton, S., Gadenne, C. & Kellouche, A. (2020).** Fumigant toxicity of *Lavandula spica* essential oil and linalool on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 23(2): 320-326.

**Khosravi, R. & Sendi, J. J. (2013).** Effect of neem pesticide (Achook) on midgut enzymatic activities and selected biochemical compounds in the hemolymph of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 53(3): 239-247.

**Kim, S.I., Roh, J.Y., Kim, D.H., Lee, H.S. & Ahn, Y.J. (2003).** Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*. 39(3): 293-303.

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

**Koroghli, K. (2018).** Activité insecticide des huiles essentielles de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) à l'égard des adultes du petit capucin des grains de blé *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae). Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri. 56p.

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

**Koul, O., Walia, S. & Dhaliwal, G. S. (2008).** Essential oils as green pesticides : Potential and constraints. *Biopesticides International*. 4(1): 63-84.

## L

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

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

- Lavialle-Defaix, C., Moignot, B., Legros, C. & Lapied, B. (2010).** How does calcium-dependent intracellular regulation of voltage-dependent sodium current increase the sensitivity to the oxadiazine insecticide indoxacarb metabolite decarbomethoxylated JW062 (DCJW) in insect pacemaker neurons?. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*. 333(1): 264-272.
- Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E. & Park, B. S. (2001).** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*. 20(4): 317-320.
- Liu, Z. L., Chu, S. S. & Jiang, G. H. (2011).** Insecticidal activity and composition of essential oil of *Ostericum sieboldii* (Apiaceae) against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. *Records of Natural Products* . 5(2): 74-81.
- Lohar, M. K. & Wright, D. J. (1993).** Changes in the lipid content in haemolymph, fat body and oocytes of malathion treated *Tenebrio molitor* L. Adult females. *Pakistan Journal of Zoology*. 25: 57-57.
- Long, S. M., Ryder, K. J. & Holdway, D. A. (2003).** The use of respiratory enzymes as biomarkers of petroleum hydrocarbon exposure in *Mytilus edulis planulatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 55(3): 261-270.
- Lopes, K. V. G., Silva, L. B., Reis, A. P., Oliveira, M. G. A. & Guedes, R. N. C. (2010).** Modified  $\alpha$ -amylase activity among insecticide-resistant and-susceptible strains of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Journal of Insect Physiology*. 56(9): 1050-1057.
- Lota, M. L., de Rocca Serra, D., Tomi, F. & Casanova, J. (2000).** Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. *Biochemical Systematics and Ecology*. 28(1): 61-78.

## M

- Maiza, A., Aribi, N., Smagghe, G., Kilani-Morakchi, S., Bendjedid, M. & Soltani, N. (2013).** Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bulletin of Insectology*. 66(1): 11-20.
- Makarem, H. A., Kholly, S. E., Abdel-Latif, A. & Seif, A. I. (2015).** Physiological and biochemical effects of some essential oils on the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.)

(Coleoptera: Curculionidae). Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology). 11: 117-123.

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

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

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

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

**Miresmailli, S., Bradbury, R. & Isman, M. B. (2006).** Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. Pest Management Science: formerly Pesticide Science. 62(4): 366-371.

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

## N

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

**Nath, B. S., Suresh, A., Varma, B. M. & Kumar, R. S. (1997).** Changes in protein metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety. 36(2): 169-173.

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

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

## O

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

**Olivero-Verbel, J., Nerio, L. S. & Stashenko, E. E. (2010).** Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*. 66(6): 664-668.

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

## P

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

**Paranagama, P. A., Kodikara, K. A. B. C. H., Nishantha, H. M. I. & Mubarak, A. M. (2000).** Effect of azadirachtin on midgut enzymes of cockroaches (*Periplaneta americana*). *Journal of the National Science Foundation*. 29: 69-79.

**Pavela, R., Barnet, M. & Kocourek, F. (2004).** Effect of azadirachtin applied systemically through roots of plants on the mortality, development and fecundity of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Phytoparasitica*. 32(3): 286-294.

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

**Pavela, R. (2005).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*. 76(7-8): 691-696.

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

**Pimentel, D., Marklein, A., Toth, M. A., Karpoff, M. N., Paul, G. S., McCormack, R. & Krueger, T. (2009).** Food versus biofuels: environmental and economic costs. *Human Ecology*. 37(1): 1-12.

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

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

## R

**Rajendran, S. & Sriranjini, V. (2008).** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*. 44(2): 126-135.

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

**Renuga, F. B. & Sahayaraj, K. (2009).** Influence of botanicals in total head protein of *Spodoptera litura* (Fab.). *Journal of Biopesticides*. 2(1): 52-55.

**Rharrabe, K., Sayah, S. & Lafont, R. (2010).** Dietary effects of four phytoecdysteroids on growth and development of the Indian Meal Moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Insect Science*. 10(13):1-12.

**Ribeiro, P. F., Johnson, B. K., Crow, M. L., Arsoy, A. & Liu, Y. (2001).** Energy storage systems for advanced power applications. *Proceedings of the IEEE*. 89(12): 1744-1756.

**Ripusudan, L. (2002).** Le Maïs en zones tropicales : amélioration et production. 1ère édition. Rome : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. 382 p.

## S

- Saheb, D. (2007).** Activité acaricide de quatre huiles essentielles sur *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval 1876 (Acari ; Tetranychidae) et contribution à l'étude de leur composition chimique par GC/MS. Mémoire de Magister, Institut national Agronomique d'El-Harrach, Alger. 83p.
- Sak, O., Uçkan, F. & Ergin, E. (2006).** Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Belgian Journal of Zoology. 136 (1): 53-58.
- Sancho, E., Ferrando, M. D., Fernandez, C. & Andreu, E. (1998).** Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to fenitrothion. Ecotoxicology and Environmental Safety. 41(2) : 168-175.
- Sami, A. J. (2014).** *Azadirachta indica* derived compounds as inhibitors of digestive -amylase in insect pests: potential bio-pesticides in insect pest management. European Journal of Experimental Biology. 4 (1): 259-264.
- Sayada, N., Tine, S. & Soltani, N. (2008).** Evaluation of a botanical insecticide, lavender (*Lavandula angustifolia* (M.)) essential oil as toxicant, repellent and antifeedant against lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* (F.)). Applied Ecology and Environmental Research. 20(2): 1301-1324.
- Sendi, J. J. & Ebadollahi, A. S. G. A. R. (2013).** Biological activities of essential oils on insects. Recent Progress in Medicinal Plants (RPMP): Essential Oils II. 37: 129-150.
- Senthil-Nathan, S., Chunga, P.G. & Muruganb, K. (2006).** Combined effect of biopesticides on the digestive enzymatic profiles of *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) (the rice leaf folder) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). Ecotoxicology and Environmental Safety. 64: 382-389.
- Sharma, N. & Bhandari, A. S. (2014).** Management of pathogens of stored cereal grains. Sustainable Agriculture Reviews. 87-107.
- Shen, Z. & Jacobs-Lorena, M. (1997).** Characterization of a novel gut-specific chitinase gene from the human malaria vector *Anopheles gambiae*. Journal of Biological Chemistry. 272(46): 28895-28900.

**Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, 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. *Analytical Biochemistry*. 19: 415-528.

**Shukla, R., Singh, P., Prakash, B., Kumar, A., Mishra, P. K. & Dubey, N. K. (2011).** Efficacy of essential oils of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown and *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet and their major constituents on mortality, oviposition and feeding behaviour of pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91(12): 2277-2283.

**Sifi, K. (2002).** Evaluation de l'effet d'un xénobiotique, l'acide borique sur la structure du tube digestif, l'inhibition d'un site cible, l'acétylcholinestérase (AChE) et l'activité d'une enzyme de détoxification, la lactate déshydrogénase (LDH) chez *Blattella germanica*. Magister, Université Badji Mokhtar de Annaba. 79 p.

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

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

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

**Sugumaran, M. (2010).** Chapter 5- Chemistry of Cuticular Sclerotization. *Advances in Insect Physiology*. Academic Press. 39:151-209.

## T

**Tabassum, R., Jahan, M., & Naqvi, S. N. H. (1994).** Determination of toxicity of Sisthion and RB—a formulation (neem extract) against *Tribolium castaneum* (Herbst.) adults and their effect on transaminases. *Neem. Newsletter*. (India). 11(1): 7-9.

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

**Tietz, F. (1999).** Thermal expansion of SOFC materials. *Ionics*. 5(1): 129-139.

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

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

**Tripathi, A. K., Prajapati, V., Khanuja, S. P. S. & Kumar, S. (2003).** Effect of d-limonene on three stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*. 96(3): 990-995.

**Tsujita, T., Ninomiya, H. & Okuda, H. (1989).** p-nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose tissue. *Journal of Lipid Research*. 30(7): 997-1004.

## V

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

**Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Kavitha, Z. & Sivasubramanian, P. (2010).** Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crociodolomia binotalis* Zeller. *Journal of Biopesticides*. 3(1): 275-277.

## W

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

**Winston, G. W. & Di Giulio, R. T. (1991).** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*. 19(2): 137-161.

## Y

**Yazdani, E., Sendi, J. J., Aliakbar, A. & Senthil-Nathan, S. (2013).** Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep :

Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 107(2): 250-257.

**Yazdani, E., Sendi, J. J. & Hajizadeh, J. (2014).** Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera : Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*. 54(1): 53-61.

## Z

**Zibae, A., Bandani, A. R., Talaei-Hassanlouei, R. & Malagoli, D. (2011).** Cellular immune reactions of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*, to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and its secondary metabolites. *Journal of Insect Science*. 11 (1): 1-16.

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

**Zibae, A., Sendi, J., Alinia, F., Ghadamyari, M. & Etebari, K. (2009).** Diazinon resistance in different selected strains of *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), rice striped stem borer, in the north of Iran. *Journal of Economic Entomology*. 102: 1189-1196.