

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Université Larbi Tébessi*  
*Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie*  
*Département de Biologie des êtres vivants*



MEMOIRE DE MASTER



Domaine : Science de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Option : Santé et Environnement

Thème :

Effet d'un biopesticide, azadirachtine à l'égard d'un ravageur des denrées stockées

Présenté par :

**Mme Halaimia Ahlem**  
**Melle Chachoui Djihen**

Devant le jury :

Dr. TINE-DJEBBAR Fouzia	MCA	Université de Tébessa	Président
Dr. TINE Samir	MCA	Université de Tébessa	Rapporteur
Dr. MENACEUR Fouad	MCB	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance :

Note : .....

Mention : .....

*Nous Remercions*

*Dieu*

*Le Tout*

*Puissant Pour*

*Tout.....*

## *Remerciements*

*Une thèse, tant nominative soit elle, est avant tout un travail de réflexion collective, donc au terme de ce travail, il m'est à la fois un plaisir et un devoir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à sa réalisation.*

*Je tiens, en tout premier lieu, à remercier le personne sans qui ce présent travail n'aurait jamais vu le jour Dr. TINE DJEBAR Fouzia pour avoir dirigé ce travail malgré ses multiple occupations avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordé.*

*Nos plus vifs remerciements à notre encadreur Dr. Tine Samir, son savoir, son ouverture d'esprit, ses conseils ont marqué à jamais notre pensé.*

*Ms. MENACEUR Fouad d'avoir accepté de faire partie des membres du jury.*

*A nos parents et tous nos frères et sœurs de leur soutien et leur grande affection et les grands efforts pour nous aider à réaliser ce travail.*

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

*Merci*

# Sommaire

Sommaire

## Sommaire

N°	Contenu	Page
1.	INTRODUCTION	01
2.	MATERIEL ET METHODES	03
2.2.1.	Présentation de l'insecte	03
2.2.2.	Etude morphologique	04
2.2.3.	Présentation de l'Azadirachtine	05
2.3.	Traitement des insectes	05
2.3.1.	Par ingestion	06
2.3.2.	Par fumigation	06
2.4.	Test de répulsion de l'azadirachtine sur <i>R. dominica</i>	07
2.5.	Extraction et dosage des métabolites	09
2.5.1.	Dosage des protéines totales	11
2.5.2.	Dosage des glucides totaux	11
2.5.3.	Dosage des lipides totaux	12
2.6.	Dosage des biomarqueurs	12
2.6.1.	Dosage des glutathion-S-Transférases	13
2.6.2.	Dosage du Malondialdéhyde (MDA)	15
2.6.3.	Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH)	17
2.7.	Analyse statistique	19
3.	RESULTAT	20
3.1.	Essais toxicologique	20
3.1.1.	Toxicité par ingestion	20
3.1.2.	Toxicologie par fumigation	21
3.2.	Effet répulsif de l'AZAD (1%) sur <i>R. dominica</i>	22
3.3.	Effet de l'AZAD (1%) par ingestion sur la composition biochimique de <i>R. dominica</i>	24
3.3.1.	Contenu en glucides totaux	24
3.3.2.	Contenu en lipides totaux	25
3.3.3.	Contenu en protéines totales	27
3.4.	Effet de l'AZAD (1%) sur les biomarqueurs	28
3.4.1.	Effet sur l'activité spécifique des GSTs	28
3.4.2.	Effet sur le taux du MDA	29
3.4.3.	Effet sur l'activité spécifique de la LDH	31
4.	DISCUSSION	33
4.1.	Toxicité de l'Azadirachtine à l'égard de <i>R. dominica</i>	33
4.2.	Effet répulsif de l'AZAD (1%) à l'égard de <i>R. dominica</i>	34
4.3.	Effet sur la composition biochimique de <i>R. dominica</i>	35
4.4.	Effet sur les biomarqueurs	37
4.4.1.	Effet sur l'activité spécifique des GSTs	38
4.4.2.	Effet sur l'activité spécifique du MDA	40
4.4.3.	Effet sur l'activité spécifique de la LDH	40
5.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	43
	RESUME	
	REFERENCES ET BIBLIOGRAPHIQUE	

# Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

## Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
Tableau 01	Pourcentage de répulsivité selon Mc DONALD <i>et al.</i> (1970)	08
Tableau 02	Dosage des protéines totales chez <i>Rhyzopertha dominica</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	11
Tableau 03	Dosage des glucides totaux chez <i>Rhyzopertha dominica</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	11
Tableau 04	Dosage des lipides totaux chez <i>Rhyzoperthadominica</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	12
Tableau 05	Effet de l'AZAD(1%)appliquer par ingestion sur des adultes de <i>R. dominica</i> sur le taux des mortalités corrigées à 1, 3, 6, 12 et 24 heures.	20
Tableau 06	Efficacités de l'AZAD (1%) appliqué sur les adultes de <i>R. dominica</i> : analyse des probits	21
Tableau 07	Effet de l'AZAD(1%)appliquer par fumigation sur des adultes de <i>R. dominica</i> sur le taux des mortalités corrigées à 24, 48 et 72 heures.	22
Tableau 08	Efficacités de l'AZAD (1%) appliqué sur les adultes de <i>R. dominica</i> : analyse des probits.	22
Tableau 09	taux de répulsivité (%) de l'AZAD(1%) testée à l'égard des adultes de <i>Rhyzopertha dominica</i>	23
Tableau 10	Effet de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes de <i>R. dominica</i> .	24
Tableau 11	Effet de l'AZAD(1%)(CL10 et CL25) sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes de <i>R dominica</i> au cours de différentes périodes.	26
Tableau 12	Effet de l'AZAD(1%)(CL10 et CL25) sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez adultes de <i>R dominica</i> au cours de différentes périodes.	27
Tableau 13	Effet de l'AZAD(1%) (CL10, CL25) sur l'activité spécifique des GSTs( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les adultes de <i>R. dominica</i> au cours de différents périodes.	29

Tableau 14	Effet de l'AZAD(1%) (CL10, CL25) sur l'activité spécifique de la MDA ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de lipide) chez les adultes de <i>R. dominica</i> au cours de différents périodes.	30
Tableau 15	Effet de l'AZAD(1%)(CL10 et CL25) sur l'activité spécifique de la LDH ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les adultes de <i>R dominica</i> au cours de différentes périodes.	31

# Liste des Figures

Liste des Figures

## Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	présentation de l'insecte <i>R.dominica</i> .	<b>03</b>
<b>Figure 02</b>	Cycle de vie du capucin des grains.	<b>05</b>
<b>Figure 03</b>	Structure chimique de l'azadirachtine	<b>05</b>
<b>Figure 04</b>	Test de toxicité par ingestion.	<b>06</b>
<b>Figure 05</b>	Test de toxicité par fumigation.	<b>07</b>
<b>Figure 06</b>	Test de répulsion.	<b>08</b>
<b>Figure 07</b>	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibkoet <i>al.</i> , 1967).	<b>10</b>
<b>Figure 08</b>	Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habiget <i>al.</i> , 1974).	<b>14</b>
<b>Figure 09</b>	Extraction et dosage de malondialdéhyde (Yagi., 1976).	<b>16</b>
<b>Figure 10</b>	Extraction et dosage des lactates déshydrogénase (Hill & Lévi ., 1954)	<b>18</b>
<b>Figure 11</b>	Effet d'AZAD (1%) sur les mortalités corrigées par ingestion.	<b>21</b>
<b>Figure 12</b>	Effet d'AZAD (1%) sur les mortalités corrigées par fumigation.	<b>22</b>
<b>Figure 13</b>	Effet de l'AZAD(1%)(CL10 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes du <i>R. dominica</i> à différentes périodes.	<b>25</b>
<b>Figure 14</b>	Effet de l'AZAD (1%) (CL10 et CL25) sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les individus de <i>R. dominica</i> à différentes périodes.	<b>26</b>
<b>Figure 15</b>	Effet de l'AZAD (1%) (CL10 et CL25) sur le contenu en protéines totales chez les adultes de <i>R.dominica</i> à différentes périodes.	<b>28</b>
<b>Figure 16</b>	Effets de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25), sur l'activité spécifique des GSTs ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les Adultes de <i>R dominica</i> à différentes périodes.	<b>29</b>
<b>Figure 17</b>	Effets de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25), sur l'activité spécifique de la MDA ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de lipide) chez les adultes de <i>R dominica</i> à différentes périodes.	<b>30</b>

<b>Figure 18</b>	Effets de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25), sur l'activité spécifique de la LDH ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les Adultes de <i>R.dominica</i> à différentes périodes.	<b>32</b>
------------------	--	-----------

# Introduction



## 1. INTRODUCTION

La région du Maghreb et particulièrement l'Algérie est confrontée à un défi d'augmentation durable de la production des céréales pour subvenir au besoin croissant de la population galopante. (FAO, 2016).

En 2015- 2016 et selon l'Agence officielle APS, la production nationale des céréales (orge, blé tendre et dur) a chuté à 3,3 million de tonnes, comparativement aux années précédentes.

Cette chute est dû à plusieurs facteurs notamment les contraintes techniques (excès de maturité choix des variétés, les insectes), les conditions climatiques (intempéries) et l'explosion démographique (le Maghreb, 2016). En effet, des pertes de récoltes estimées à 40% de la production potentielle (Dimetry, 2014) sont dues essentiellement à des ravageurs (KulKarniet *al.*, 2009).

Pour cela, plusieurs mesures ont été entreprises, telles que la désinsectisation par l'utilisation des pesticides appropriés empêchant la prolifération des ravageurs et la protection des denrées. Parmi ces derniers qui attaquent les céréales depuis la récolte jusqu'à la consommation, on peut citer, *Rhizoperthadominica* (Fab, 1792) *Sitophiluszeamais* (Motschulsky, 1855) et *Sitophilusgranarius* (L, 1758).

*Rhizoperthadominica* ou capucin des grains est un ravageur primaire, avec une large répartition géographique. C'est la seule espèce de Bostrychidae qui attaque les céréales et cause d'énormes dégâts au niveau des stocks (Balaskowsky, 1962). L'élimination de ces insectes ravageurs dépend fortement de l'utilisation des pesticides (Kljajic et Peric, 2006 ; Islam *et al.* 2010). Mais l'utilisation abusive de ces derniers a provoqué l'apparition des phénomènes de résistances, la pollution et l'atteinte de la santé humaine (Desneux *et al.*, 2007 ; Pimenta *et al.* , 2009 ; Ali *et al.* , 2012).

Tous ces risques et problèmes associées à l'utilisation des produits chimiques ont conduit à une réglementation de plus en plus stricte (Pavela *et al.* , 2007), par la recherche et le développement des alternatives efficaces plus sûres, faciles et amies à l'environnement (Tapondjouet *al.* , 2005).

Ainsi dans le cadre du développement durable, des pesticides non polluants ont été commercialisés par les firmes pharmaceutiques et phytosanitaires ; ces molécules alternatives aux pesticides conventionnels sont représentées par les pesticides synthétiques de la 3<sup>ème</sup> génération (régulateurs de croissance) ou encore les pesticides d'origine naturelle (biopesticides). Les pesticides naturels issus du développement de la biotechnologie, se définissent comme provenant d'organismes vivants ; animaux, plantes, bactéries ou encore

certaines minéraux (Sporleder et Lacy, 2013). Il a été enregistré plus de 192 biopesticide actifs (Cantrellet *al.*, 2012). Parmi ces molécules biodégradables et à faible impact environnemental se trouve l'azadirachtine.

L'Azadirachtine provient des grains d'*Azadirachta indica*, arbre, à croissance rapide, de la famille des *Meliaceae* originaire d'Asie du Sud-est. L'AZAD, triterpénoïde, est le *limonoïde* le plus puissant et actif dans les grains de Neem. Il a été utilisé comme insecticide (Mordue *et al.*, 2005, 2010), acaricide (Denardiet *al.*, 2010) ou encore contre les crustacés ectoparasites des poissons (Banerjee *et al.*, 2014). L'Azadirachtine, structurellement semblable aux ecdysones d'insectes, agit comme un régulateur de croissance en perturbant les processus physiologiques comme le développement et la reproduction (Mordue *et al.*, 2005 ; Morgan, 2009). Il peut également agir par des effets antiappétants sur le mouvement naturel de l'intestin, provoquant une paralysie et le dépérissement des organismes cibles (Strark *et al.*, 1990 ; Schmutterer et Singh, 1995 ; Senthil-Nathonet *al.*, 2004 , 2005, 2006).

Les objectifs de cette étude sont les suivants :

1. Evaluer la toxicité de l'Azadirachtine, testé par fumigation et par ingestion sur les adultes de *R. dominica*. La détermination des concentrations sublétales et létales et leurs intervalles de confiance a été faite.
2. Evaluer les effets sublétaux (CL10 et CL25) de l'Azadirachtine par ingestion, sur la composition biochimiques des adultes à différentes périodes (24, 48 et 72 h) après traitement.
3. Examiner les effets sublétaux (CL10 et CL25) de l'AZAD par ingestion sur le stress oxydatif; ceci par l'évaluation des activités spécifiques des Glutathion-S-Transférases (GSTs), le Malondialdéhyde (MDA) et le Lactate Déshydrogénase (LDH).

# Material et Méthodes

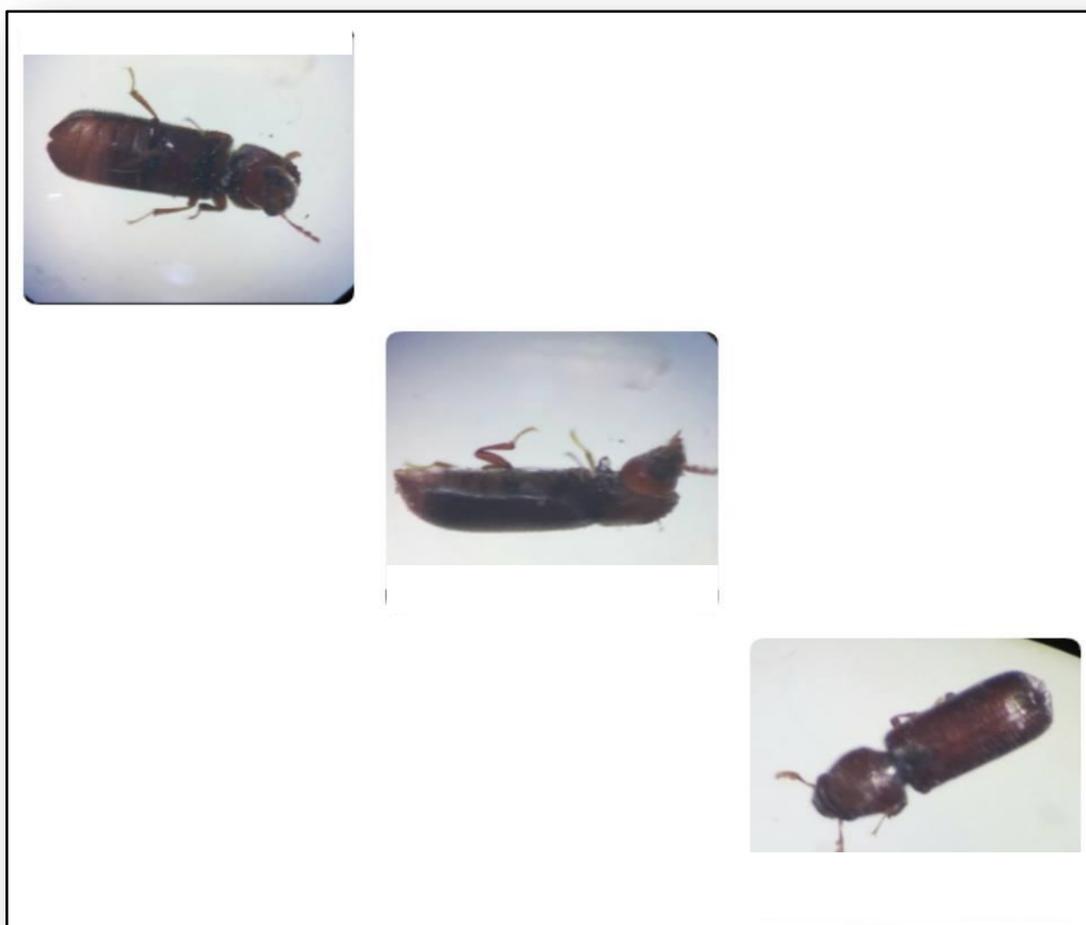


## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.2.1. Présentation de l'insecte :

*R. dominica*, Coléoptère Bostrichidae également appelé capucin des grains, est un petit insecte brun capable d'attaquer les grains sains et entiers (ravageur primaire). Les adultes sont bruns foncés, presque cylindriques et mesurent 4mm de long avec une grosse tête penchée sous le thorax. Les larves complètement développées mesurent 2,5 mm de long, sont incurvées et renflées aux deux extrémités. Elles ont une tête brune et six courtes pattes (Ripusudanet *al.*, 2011).

Les larves et les adultes se nourrissent à l'intérieur des grains. La femelle pond ses œufs de 300 à 500 dans le grain. Le cycle dure un mois en conditions favorables. Cet insecte est répandu dans le monde entier (Ripusudanet *al.*, 2011).



**Figure 01:**Présentation de *R.dominica* (A : côté dorsal, B : côté latéral, C : côté ventral)  
(Chachoui et Halaimia, 2017)

- La position systématique de *Rhyzopertha dominica* :
  - **Règne:**Animale.
  - **Embranchement:**Arthropode.
  - **Sous embranchement:** Antennates ou Mandibulates.
  - **Classe:**Insecte.
  - **Sous classe:** Ptérygote.
  - **Ordre:**Coléoptère.
  - **Famille:**Bostrychidae.
  - **Genre:**Rhyzopertha.
  - **Espèce:**Rhyzopertha dominica. (Balachowsky, 1962).

### 2.2.2. Étude morphologique

#### A. Œufs

Œufs piriformes, blancs ou rosés, isolés ou en petits paquets (Balachowsky, 1962).

#### B. Larves

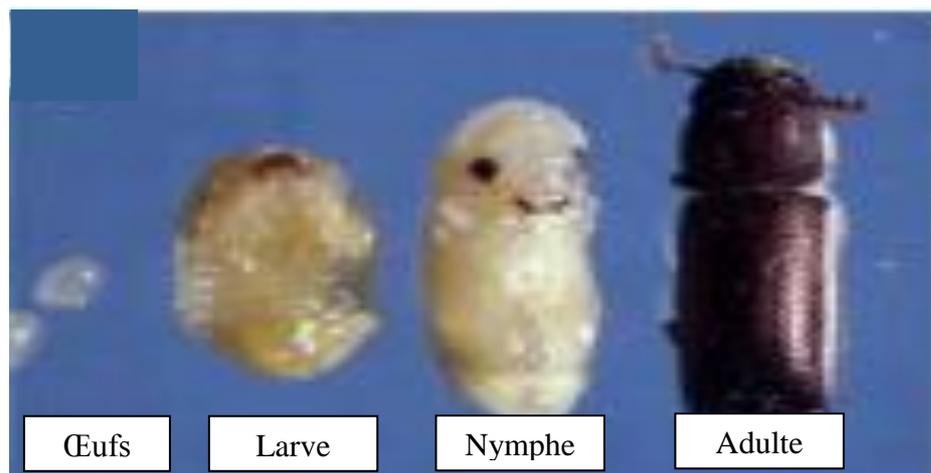
Les larves du premier stade sont de type Chrysomélien (pourvues de pattes) ; les troisderniers stades sont apodes de type Rhynchophorien. Au 1er âge, elle mesure de 1 à 1,5 mm de long. Au dernier stade, elle atteint 2,5 à 3mm, fortement incurvée et épaisse, blanche avec des soies foncées et segment anal renflé. Sa tête grosse est brune ornée de poils bruns avec des pattes assez grandes brunes (Mourier-Alguiler, 1979).

#### C. Adultes

*R. dominica* mesure 2,5 à 3 mm de long, d'un corps étroit et cylindrique de couleur brun rougeâtre. Antennes à dix (10) articles les trois derniers étant très grandes subtriangulaires et velus, leur longueur globale étant supérieure à celle des autres articles. Pronotum très bombé plus fortement granulé en avant. Elytres 2,5 fois plus long que larges, arrondis à l'arrière et présentant des stries de grosses ponctuations (Delobel et Tran, 1993).

- Cycle de développement :

La femelle pond de 400 à 500 œufs à la surface ou à l'intérieur des grains. Dès l'éclosion, la larve pénètre dans l'albumen et se nourrit au fur et à mesure de son progression, elle passe par 3 ou 4 stades avant de se nymphoser à l'intérieur du grain. Le cycle complet dure environ 30 jours à 30°C et près de 60 jours à 26°C. L'adulte vit de 3 à 6 semaines (Seck, 2006). (Figure 02).

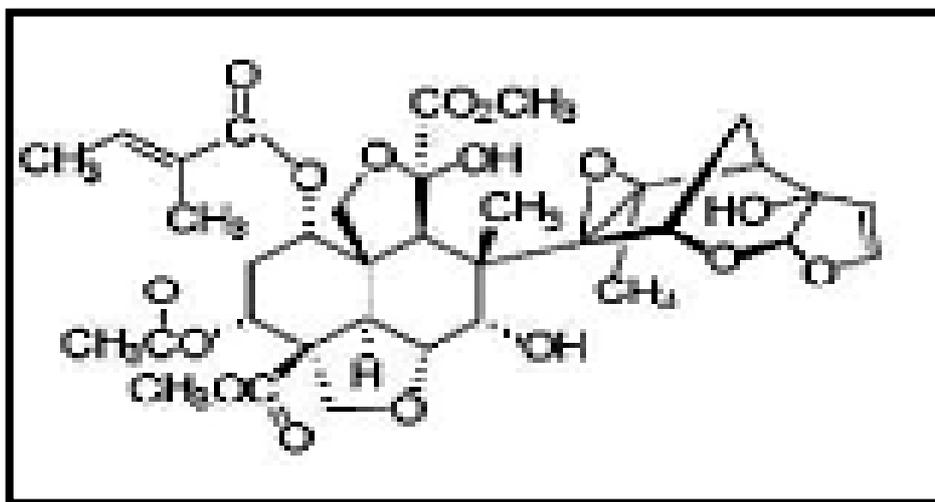


**Figure 02 :** Cycle de vie du capucin des grains. ([www.grainscanada.gc.ca/storage-entrepote](http://www.grainscanada.gc.ca/storage-entrepote)).

### 2.2.3. Présentation de l'Azadirachtine :

L'azadirachtine commercialisé sous le nom de NeemAzal- T/S est composé d'azadirachtine A (1% d'Azadirachtine ; Emulsion concentrée (EC) ; Firme : Trifolio – MGmbH, Lahnau, Germany).

La masse molaire de l'azadirachtine A est de  $720,7 \text{ g.mol}^{-1}$ , et sa formule chimique :  $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{O}_{16}$ . Cette formulation émulsifiable dans l'eau, correspond à un liquide brun avec une odeur caractéristique du Neem (Figure 03).



**Figure 03 :** Structure chimique de l'Azadirachtine.

### 2.3. Traitement des insectes :

L'Azadirachtine a été dissous dans l'éthanol et appliqué par fumigation et par ingestion sur des adultes de *R. dominica*.

### 2.3.1. Par ingestion :

Après un screening préalable, l'insecticide dissous dans l'acétone a été testé à différentes doses (2,5, 5, 10, 20 et 40 ppm) sur des Adultes de *R. dominica* dans des flacons en plastiques d'une capacité de 60ml de 10g de blé sain (Figure 04).

Cinq répétitions de 10 individus mâles et femelles (sexes confondus) chacune ont été réalisées pour chaque dose. Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent de solvant (éthanol).

La mortalité a été enregistrée à 1h, 3h, 6h, 12h et 24h après traitement. La mortalité observée a été corrigée selon la formule d'Abbott (1925), afin d'éliminer la mortalité naturelle. Les concentrations létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM 6.



**Figure 04 :** Test de Toxicité par ingestion. (Chachoui et Halaimia, 2017).

### 2.3.2. Par fumigation :

Après un screening préalable, l'azadirachtine a été appliqué à différentes concentrations : 10, 20, 40, 60, 80 et 100 ppm sur un disque de papier filtre de 2,5 cm de diamètre suspendue à l'aide d'un fil à la face interne du couvercle.

Le traitement a été administré sur des adultes mâles et femelles de *R. dominica* dans des boîtes en plastiques d'une capacité de 60 ml contenant 10g de blé sain (Figure 05). Quatre répétitions de 10 individus ont été réalisées pour chaque concentration. Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent de l'eau distillée.

La mortalité a été enregistrée à 24,48 et 72h après traitement. La mortalité observée a été corrigée selon la formule d'Abbott (1925), et les concentrations sous létales et létales ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) ont été calculées grâce à un Logiciel GRAPH PAD PRISM 6.



**Figure 05 :** Test de toxicité par fumigation. (Chachoui et Halaimia, 2017).

#### 2.4. Test de répulsion de l'azadirachtine sur *R. dominica* :

Ce test est utilisé pour calculer le pourcentage de répulsion de l'azadirachtine 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 l'Azadirachtine additionné d'acétone et l'autre moitié est traitée avec de l'acétone uniquement.

Des doses de 2µl, 4µl, 8µl et 10µl pour l'azadirachtine sont diluées respectivement dans 0,5 ml d'acétone, pour que la répartition de l'AZAD 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 les papiers filtres au milieu des boîtes de pétri (Figure 06) et quatre répétitions sont réalisées pour chaque dose.

Après 15min, 30min, 1h, 2h et 24h de traitement de *R. dominica*, le dénombrement de ce dernier 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 :

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

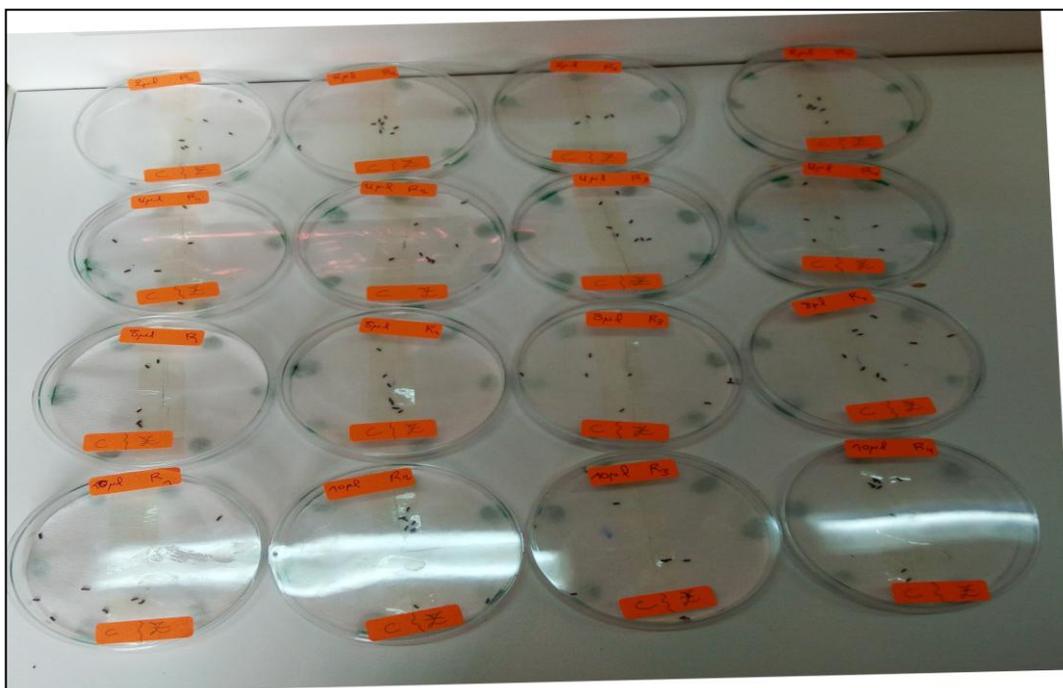
NC : Nombre d'insectes présents sur le demi-disque traité uniquement avec l'acétone.

**NT**: le nombre d'insectes présents sur le demi-disque traité avec la solution (AZAD-Acétone).

Le pourcentage de répulsion moyen calculé, est attribué à l'une des différentes classes variant de 0 à 5 (Mc Donald *et al.*, 1970) et qui sont présentés dans le tableau 01

**Tableau 01:** Pourcentages de répulsion selon le classement de MC DONALD *et al.* (1970).

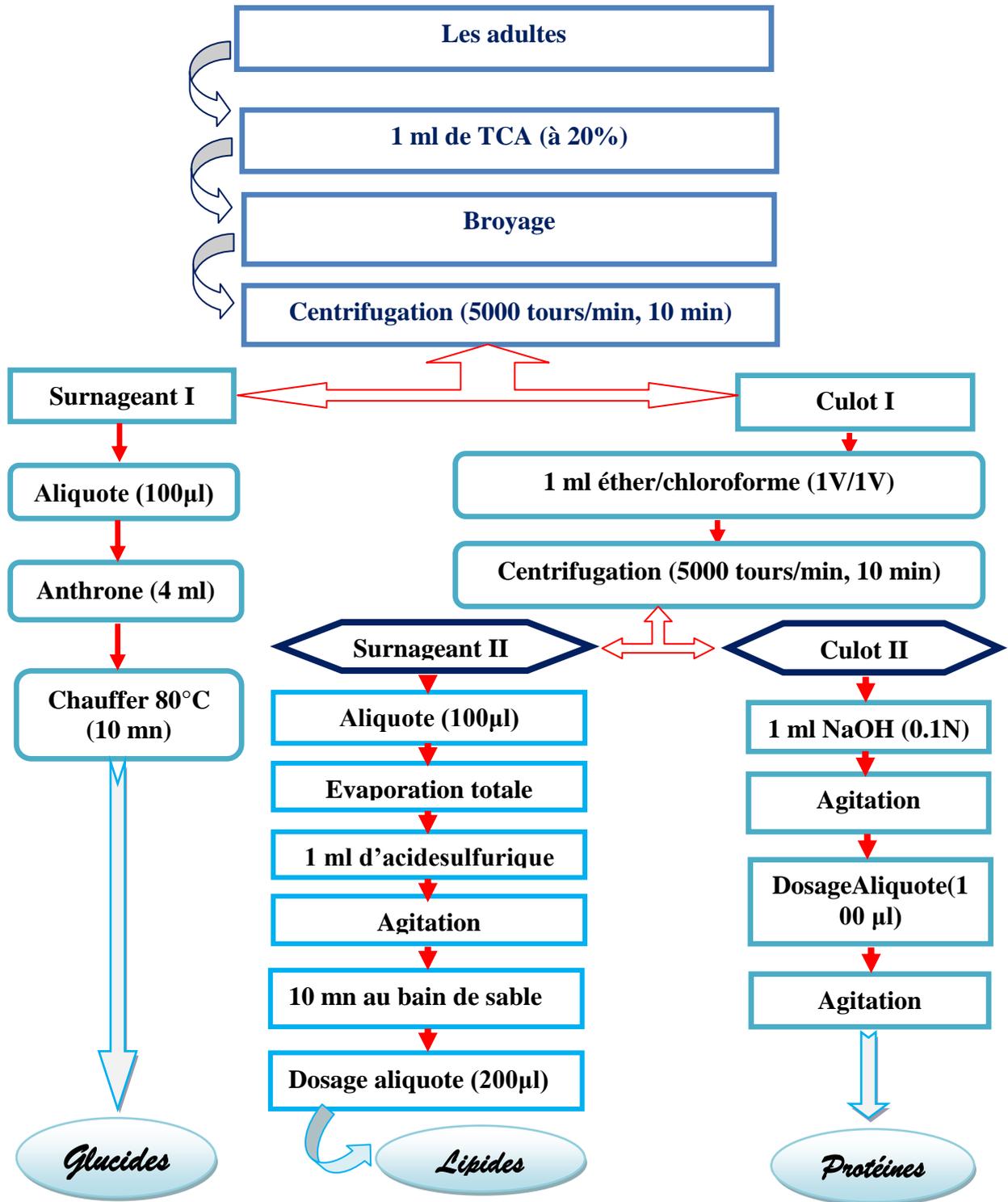
Classes	Intervalles de répulsion	Propriétés
<b>Classe 0</b>	$PR \leq 0,1 \%$	Très faiblement répulsif
<b>Classe I</b>	$0,1\% < PR \leq 20\%$	faiblement répulsif
<b>Classe II</b>	$20\% < PR \leq 40\%$	Modérément répulsif
<b>Classe III</b>	$40\% < PR \leq 60\%$	Moyennement répulsif
<b>Classe IV</b>	$60\%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



**Figure 06 :** Test de répulsion (Chachoui et Halaimia, 2017).

## 2.5. Extraction et dosage des métabolites :

Selon le procédé de Shibkoet *al.*, (1966), l'extraction des différents métabolites a été réalisée dans cette étude, et la figure 07 résume les principales étapes. Les échantillons sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs / min, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau et 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).

Duchateau&Florkin, (1959)Goldsworthy *et al.* (1972)

Bradford, (1976)

Figure 07 : Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko *et al.*, 1966)

### 2.5.1. Dosage des protéines totales :

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976), dans une fraction aliquote de 100  $\mu$ l à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg/ml (Tableau 02).

**Tableau 02:** 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 ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine ( $\mu$ g)	0	20	40	60	80	100

### 2.5.2. 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  $\mu$ l du 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 glucides présentes 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 03).

**Tableau 03 :** 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 ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose ( $\mu$ g)	0	20	40	60	80	100

### 2.5.3. 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 min dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 µl de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30 min 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 04).

**Tableau 04 :** Dosage des lipides totaux chez les adultes de *R. dominica* : réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

### 2.6. Dosage des biomarqueurs :

Les adultes des séries témoins et traitées aux huiles essentielles (CL10 : 0,38 ppm et CL25 : 0,96 ppm à 24 heures) ont fait l'objet d'un dosage des glutathion S-transférases (GST), d'aldéhyde (MDA) et de lactate déshydrogénase (LDH) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures. Par ailleurs, le contenu en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminé, afin de pouvoir calculer les différentes activités spécifiques et le taux du glutathion.

### 2.6.1. Dosage des glutathion S-transférases :

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

Les adultes de *Rhyzopertha dominica* témoins et traités à la CL10 et la CL25, sont prélevés à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesés puis broyés dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 10 individus avec une série témoin. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (14000 trs/min à 4°C pendant 30 min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs (Figure 08).

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

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

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

**X** : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

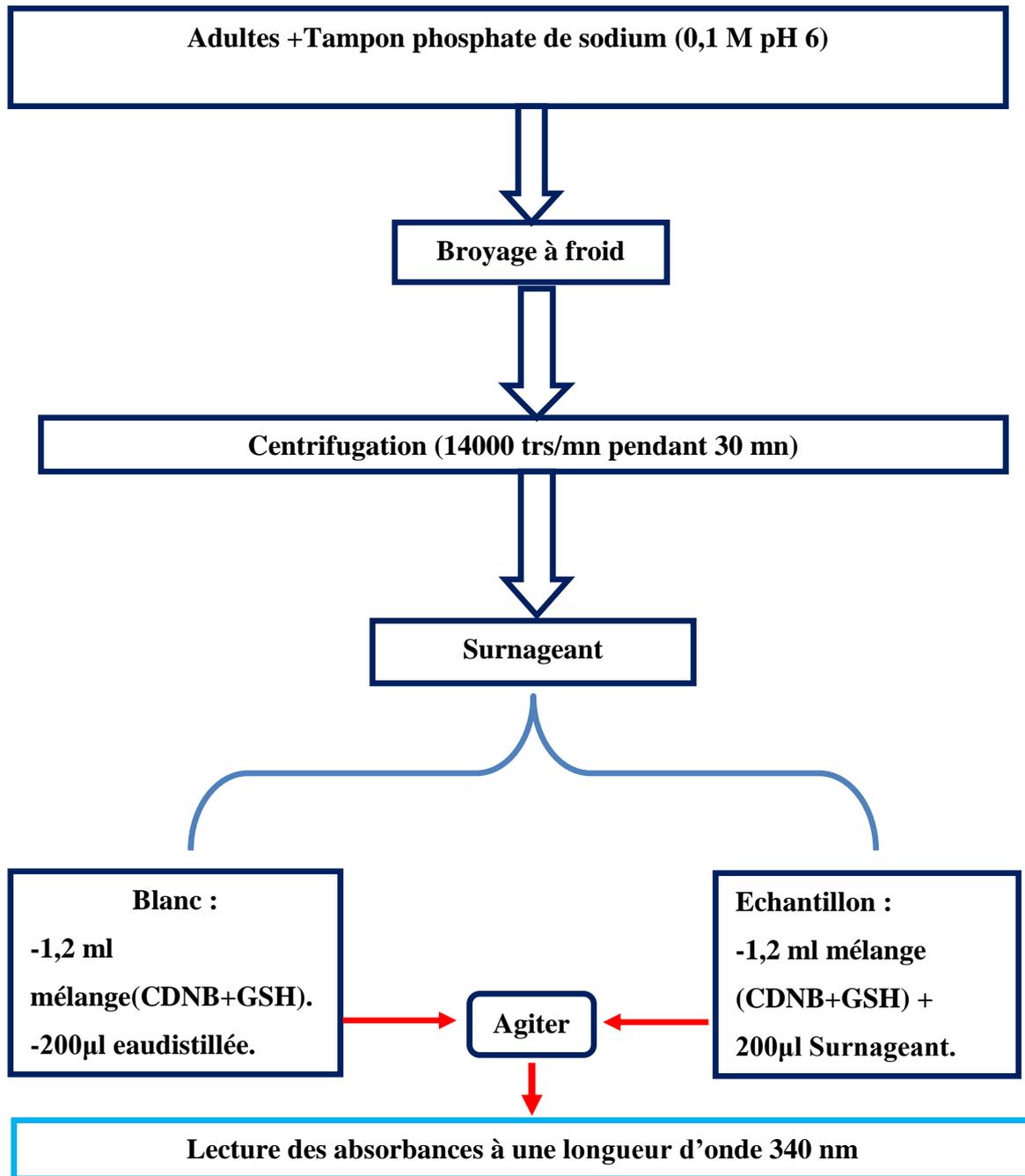
**Δ Do** : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

**9,6** : coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

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

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

**mg de protéines** : quantité de protéines exprimée en mg.



**Figure 08:** Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habiget *al.*, 1974).

### 2.6.2. Dosage de Malondialdéhyde (MDA) :

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532nm (Yagi., 1976).

Acide trichloroacétique (TCA) 20% P/V; Acide thiobarbiturique (TBA) 0.375% P/V; Butylhydroxytoluène (BHT) 0.01% P/V; Chlorure d'hydrogène (HCL) 1 N. 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée ont été introduit dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge (Yagi., 1976).

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100µl d'échantillon, 400 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Figure 09). (Yagi., 1976).

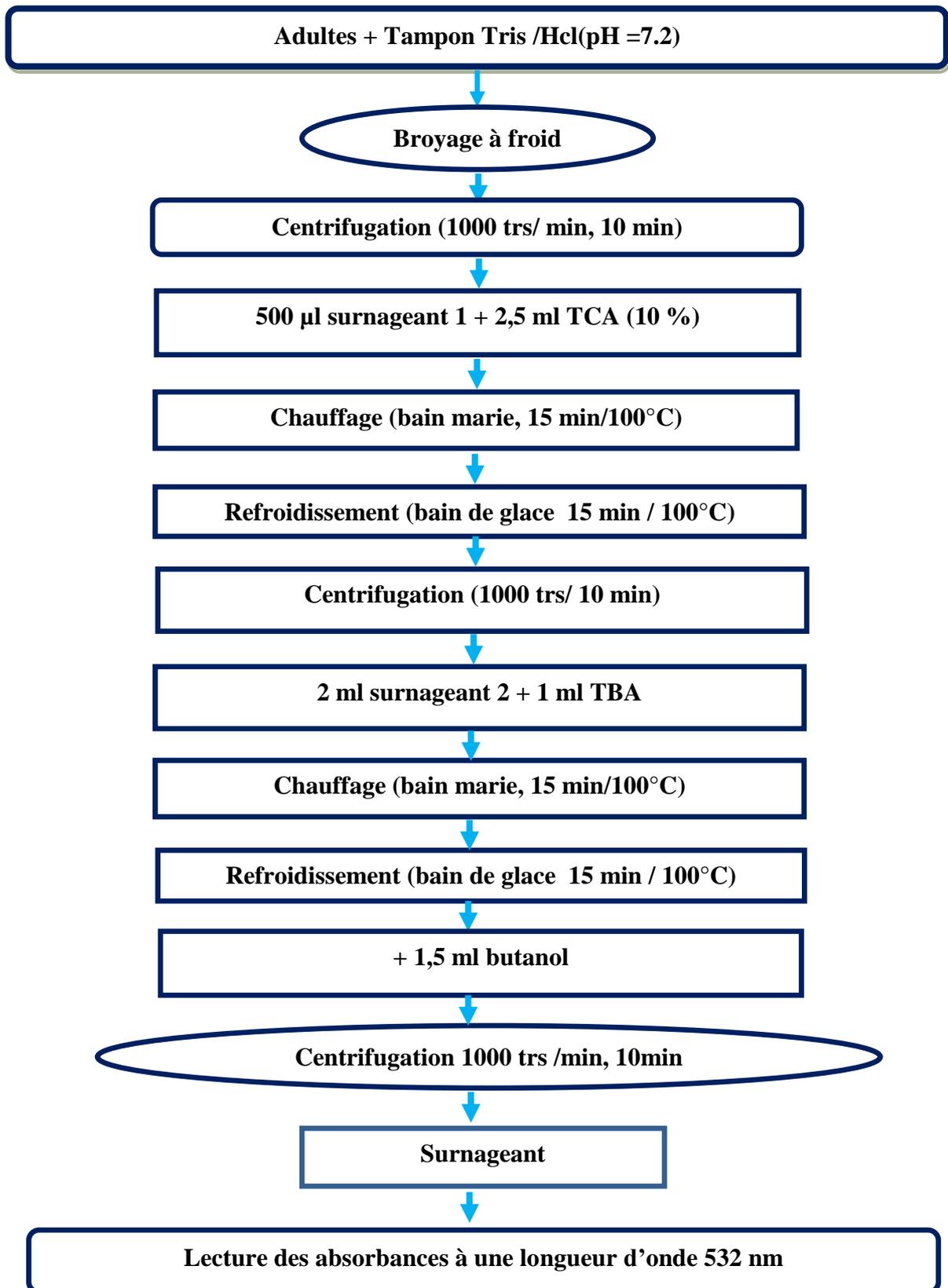


Figure 09 : Extraction et dosage du malondialdéhyde(Yagi., 1976).

### 2.6.3. Dosage du lactate déshydrogénase (LDH)

Le dosage du lactate déshydrogénase (LDH) est réalisé suivant la méthode de Hill & Lévi (1954) où l'enzyme catalyse la conversion réversible du lactate en pyruvate. La méthode est basée sur la mesure continue de la vitesse d'oxydation du NADH (nicotinamide adéninedinucléotide réduite) épuisé dans la réaction.

Les adultes des différentes séries témoins et traitées sont homogénéisés dans 1 ml de tampon Tris/ HCL (0,1 M; pH 7,2). L'homogénat est centrifugé à 3000 tours/min pendant 5 min. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage est effectué sur 50  $\mu$ l de surnageant auquel on ajoute 675  $\mu$ l de tampon substrat (0,2 M, pH10) (1,25 ml sodium lactate à 70% + 31,25 ml tampon glycine 0,1 M (0,750 g glycine, 0,585 g NaCL, 100 ml eau distillée) + 18,75 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N + 1 goutte de chloroforme) et 50  $\mu$ l de solution coenzyme NAD (10 mg NAD + 1ml eau distillée). La lecture des absorbances s'effectue toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc préparé avec 775  $\mu$ l de tampon substrat (0,2 M; pH10). La lecture des absorbances à une longueur d'onde 340 nm est employée pour l'estimation de la quantité de substrat convertie par unité de temps (Figure 10).

$$\text{LDH} = \frac{\delta \text{DO} / \text{min}}{6,22 \times 10^3} \times \frac{V_t}{V_s} \text{ CO}$$

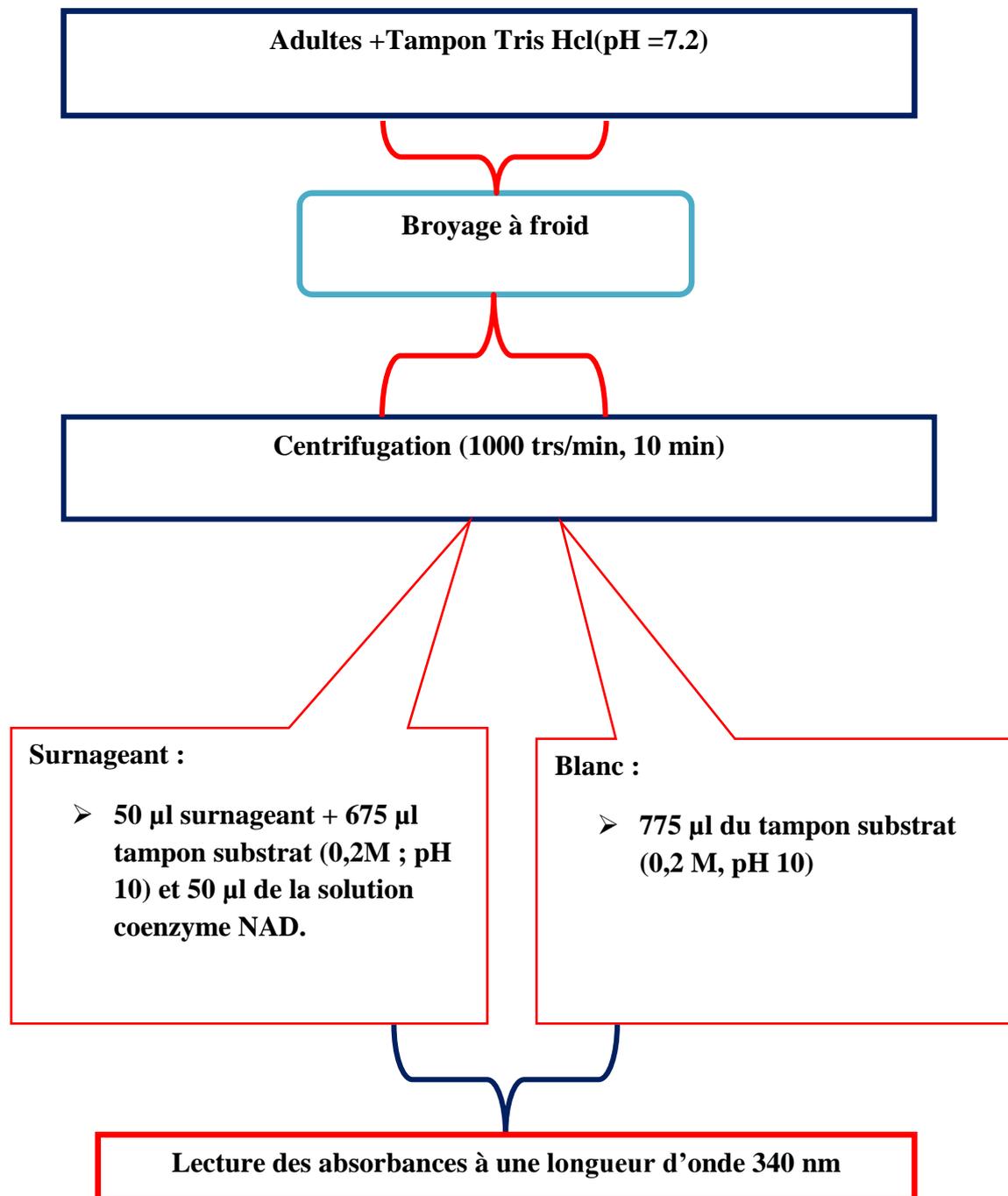
**$\delta \text{DO}$** : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat.

**$6,22 \times 10^3 \text{ M}$**  : coefficient d'extinction molaire du NADH, ( $\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

**$V_t$** : volume totale de la cuve 775  $\mu$ l (50  $\mu$ l de surnageant + 675  $\mu$ l de tampon substrat + 50  $\mu$ l de solution coenzyme NAD).

**$V_s$**  : volume de surnageant dans la cuve 50  $\mu$ l.

**$\text{CO}$**  : concentration de l'homogénat en protéines (mg/ml).



**Figure 10 :** Extraction et dosage de la lactate déshydrogénase (Hill & Lévi ., 1954).

### **2.7. Analyse statistique**

Les moyennes  $\pm$  SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test t de Student, l'analyse de la variance à un critère de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les échantillons pour toutes les expérimentations (MINITAB, version 2017).

Résultats



### 3. RESULTATS

#### 3.1. Essais toxicologiques :

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité de l'AZAD (1%), évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les adultes de *R. dominica* à différentes périodes 24, 48 et 72 heures après traitement.

##### 3.1.1. Toxicité par ingestion :

Les résultats de mortalité corrigée de *R. dominica* suite à un traitement par l'azadirachtine (ingestion) révèlent des taux variant de 10% à 1h et 54% à 24h respectivement pour la dose la plus faible (2,5ppm) jusqu'à 88% à 1h et 100% à 24h respectivement pour la dose la plus forte (40ppm). De plus, on note une augmentation du taux de mortalité corrigée en fonction des concentrations appliquées et le temps d'exposition (Tableau 05 et Figure 11).

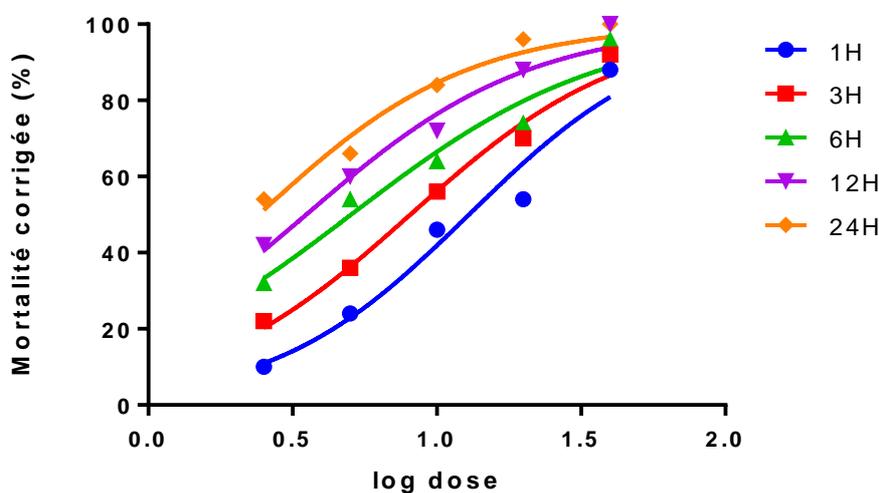
Les concentrations sous létales et létales, au cours de différentes périodes ainsi le Slope et le coefficient de détermination sont calculés par logiciel GRAPH PAD PRISM 6. (Tableau 06 et Figure 11)

**Tableau 05 :** Effet de l'AZAD(1%) appliqué par ingestion sur des adultes de *R. dominica* sur le taux de mortalité corrigée à différentes périodes ( $m \pm SEM$ ,  $n=5$  répétitions comportant chacune 10 individus).

Dose(ppm) Temps	2,5	5	10	20	40
1h	10,0 $\pm$ 8,0	24,0 $\pm$ 7,2	46,0 $\pm$ 4,8	54,0 $\pm$ 4,8	88,0 $\pm$ 6,4
3h	22,0 $\pm$ 6,4	36,0 $\pm$ 4,8	56,0 $\pm$ 4,8	70,0 $\pm$ 4,0	92,0 $\pm$ 6,4
6h	32,0 $\pm$ 6,4	54,0 $\pm$ 8,8	64,0 $\pm$ 4,8	74,0 $\pm$ 4,8	96,0 $\pm$ 4,8
12h	42,0 $\pm$ 6,4	60,0 $\pm$ 4,0	72,0 $\pm$ 3,2	88,0 $\pm$ 10,4	100 $\pm$ 0,0
24h	54,0 $\pm$ 6,4	66,0 $\pm$ 4,8	84,0 $\pm$ 4,8	96,0 $\pm$ 4,8	100 $\pm$ 0,0

**Tableau 06 :** Efficacités de l’AZAD (1%) appliqué sur les adultes de *R. dominica* : analyse des probits.

AZAD(1%)	R <sup>2</sup>	Slope	CL 10 (ppm) IC (95%)	CL 25 (ppm) IC (95%)	CL 50 (ppm) IC (95%)	CL 90 (ppm) IC (95%)
1h	0,90	1,71	2,32 [0,80 – 6,72]	5,47 [2,89 – 10,37]	12,91 [8,37 – 19,95]	71,94 [23,38 – 221,30]
3h	0,96	1,32	1,23 [0,62 – 2,45]	3,16 [2,08 – 4,79]	8,09 [6,27 – 10,44]	53,08 [27,66 – 101,62]
6h	0,89	1,49	0,56 [0,13 – 2,35]	1,68 [0,70 – 4,04]	5,04 [3,17 – 8,01]	45,28 [14,45 – 142,23]
12h	0,93	1,43	0,50 [0,17 – 1,47]	1,33 [0,67 – 2,61]	3,52 [2,47 – 5,02]	24,77 [11,58 – 52,96]
24h	0,92	1,55	0,38 [1,11 – 1,34]	1,55 [0,43 – 2,16]	2,41 [1,59 – 3,66]	15,06 [7,33 – 30,97]



**Figure 11 :** Effet d’AZAD (1%) sur la mortalité corrigées par ingestion chez les adultes du *R.dominica* à différentes périodes (m ± SEM, n=5 comportant chacune 10 individus).

### 3.1.2. Toxicité par fumigation :

Les mortalités corrigées signalées à différentes périodes après traitement affichent des valeurs allant de 10% à 24h et 36,67% à 72h pour la concentration de 10 ppm jusqu’à 80% à 24h et 100% à 72h pour la forte concentration (100ppm). De plus, on note une augmentation du taux de mortalités corrigées en fonction des concentrations appliquées et le temps d’exposition.

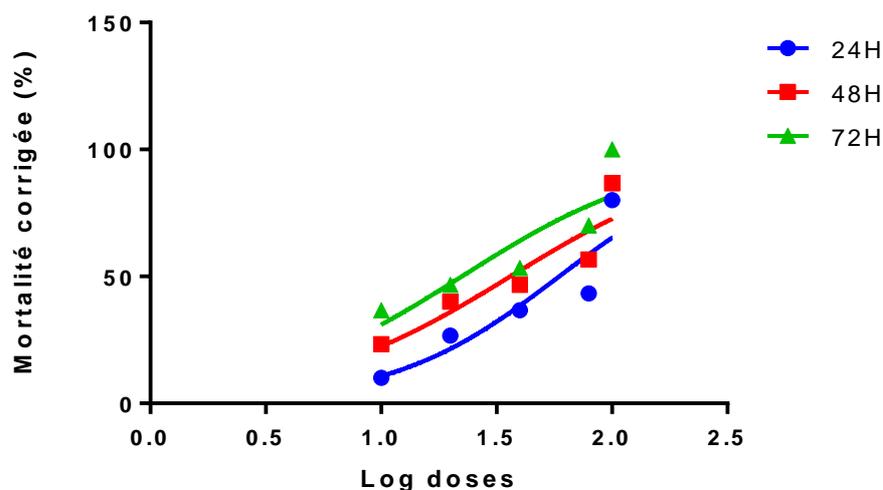
Les concentrations sous létales et létales ainsi que le slope et le coefficient de détermination (R<sup>2</sup>) ont été déterminées par le logiciel GRAPH PAD PRISM 6 et sont présentés dans le tableau 07 et la Figure 12.

**Tableau 07 :** Effet de l’AZAD(1%)appliqué par fumigation sur des adultes de *R. dominica* sur le taux des mortalités corrigées à différentes périodes (m ± SEM, n=5 répétitions comportant chacune 10 individus).

Doses ppm Temps	10	20	40	80	100
24h	10,00 ± 6,67	26,67 ± 4,44	36,67 ± 4,44	43,33 ± 8,89	80,00 ± 13,33
48h	23,33 ± 4,44	40,00 ± 6,67	46,67 ± 4,44	56,67 ± 8,89	86,67 ± 8,89
72h	36,67 ± 4,44	46,67 ± 4,44	53,33 ± 4,44	70,00 ± 6,67	100 ± 0,00

**Tableau 08 :** Efficacités de l’AZAD (1%) appliqué sur les adultes de *R. dominica* : analyse des probits.

AZAD (1%)	R <sup>2</sup>	Slope	CL 10 (ppm) IC (95%)	CL 25 (ppm) IC (95%)	CL 50 (ppm) IC (95%)	CL 90 (ppm) IC (95%)
24h	6,59	2,69	9,36 [1,13 – 77,44]	23,49 [7,18 – 77,09]	59,02 [27,47 – 127,05]	372,39 [34,67 – 3999,44]
48h	6,77	1,99	3,70 [0,32 – 42,16]	11,58 [2,84 – 47,31]	36,22 [16,86 – 77,98]	354,81 [34,43 – 3655,94]
72h	5,99	2,36	2,45 [0,11 – 54,95]	7,41 [1,11 – 49,09]	22,33 [8,30 – 60,11]	202,76 [16,74 – 2449,06]



**Figure 12:** Effet d’AZAD(1%) par fumigation sur la mortalité corrigées chez les adultes du *R.dominica*à différentes périodes (m ± SEM, n=5 répétition, comportant chacune 10 individus).

### 3.2. Effet répulsif de l’AZAD (1%) sur *R.dominica* :

Les résultats du pouvoir répulsif de l’azadirachtine (1%) à l’égard de *R. dominica* sont présentés dans le tableau 09. Ce pouvoir a été déterminé selon la méthode de Mc Donald, (1976).

Le pourcentage de répulsion marque une augmentation en fonctions des concentrations appliquées et le temps d’exposition.

De plus, la classe de répulsion de l'AZAD varie de 1 à 24h et avec la dose 2 $\mu$ l avec un pourcentage de (15%) jusqu'à 5 avec un pourcentage de (95%) à 15min et avec la plus forte dose. (Tableau 09)

**Tableau 09** : taux de répulsivité (pourcentage de l'AZAD (1%)) testé à l'égard des adultes de *R. dominica*

Concentrations	Périodes après traitement	PR %	Classe
2 $\mu$ l	15min	55 $\pm$ 41.23	3
	30min	40 $\pm$ 28.28	2
	1heure	40 $\pm$ 28.28	2
	2heures	30 $\pm$ 20.00	2
	24heures	15 $\pm$ 15.00	1
4 $\mu$ l	15min	65 $\pm$ 41.23	4
	30min	60 $\pm$ 28.28	3
	1heure	60 $\pm$ 28.28	3
	2heures	30 $\pm$ 11.54	2
	24heures	15 $\pm$ 7.50	1
8 $\mu$ l	15min	80 $\pm$ 16.32	4
	30min	75 $\pm$ 19.14	4
	1heure	75 $\pm$ 19.14	4
	2heures	60 $\pm$ 40.00	3
	24heures	30 $\pm$ 20.00	2
10 $\mu$ l	15min	95 $\pm$ 10.00	5
	30min	85 $\pm$ 19.14	5
	1heure	80 $\pm$ 16.32	4
	2heures	70 $\pm$ 25.81	4
	24heures	50 $\pm$ 30.00	3

### 3.3. Effet de l'AZAD (1%) par ingestion sur la composition biochimique de *R. dominica*:

L'Azadirachtine (1%) a été appliqué par ingestion sur des adultes de *R. dominica* avec deux concentrations sous létales (CL10 et CL25). Ses effets ont été évalués sur la composition biochimique (Glucides, lipides, protéines) de cette espèce à 24h, 48h et 72h après traitements.

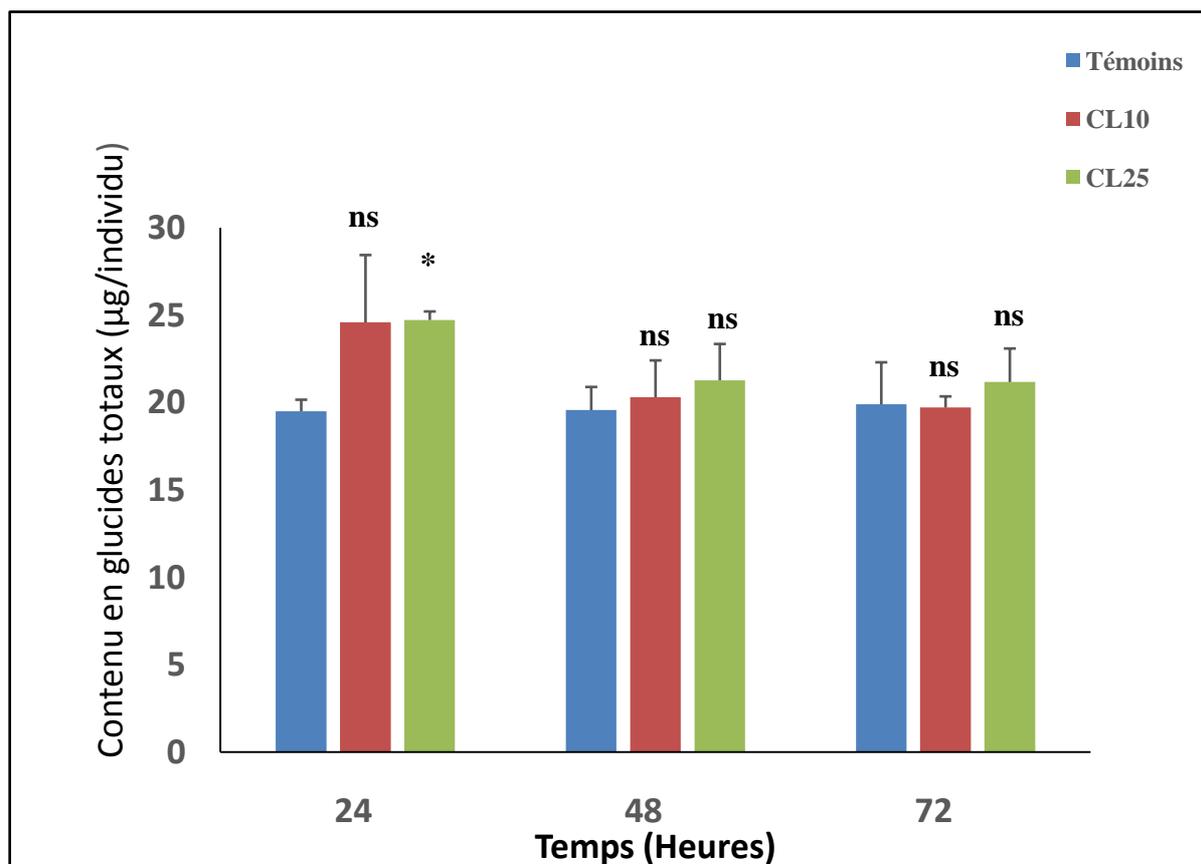
#### 3.3.1. Contenu en glucides totaux :

Les résultats de ce contenu révèle une variation non significative ( $p > 0,05$ ) aussi bien chez les séries témoins que chez les séries traitées.

La comparaison des valeurs moyenne montre une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) à 48 et 72h chez les traités par rapport aux témoins. Par contre, à 24h, on note une augmentation significative ( $p = 0,027$ ) de ce paramètre biochimique avec la dose la plus élevée (CL25) (Tableau 10 Figure 13).

**Tableau 10 :** Effet de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes de *R. dominica* ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettres en majuscules : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, Lettre en minuscules : comparaison des moyennes dans un même temps entre les différentes séries).

Temps	Témoins	CL10	CL25
24h	19,50 $\pm$ 0,67 a A	24,59 $\pm$ 3,86 a A	24,73 $\pm$ 0,49 b A
48h	19,57 $\pm$ 1,33 a A	20,31 $\pm$ 2,11 a A	21,28 $\pm$ 2,08 a A
72h	19,90 $\pm$ 2,41 a A	19,71 $\pm$ 0,64 a A	21,18 $\pm$ 1,92 a A



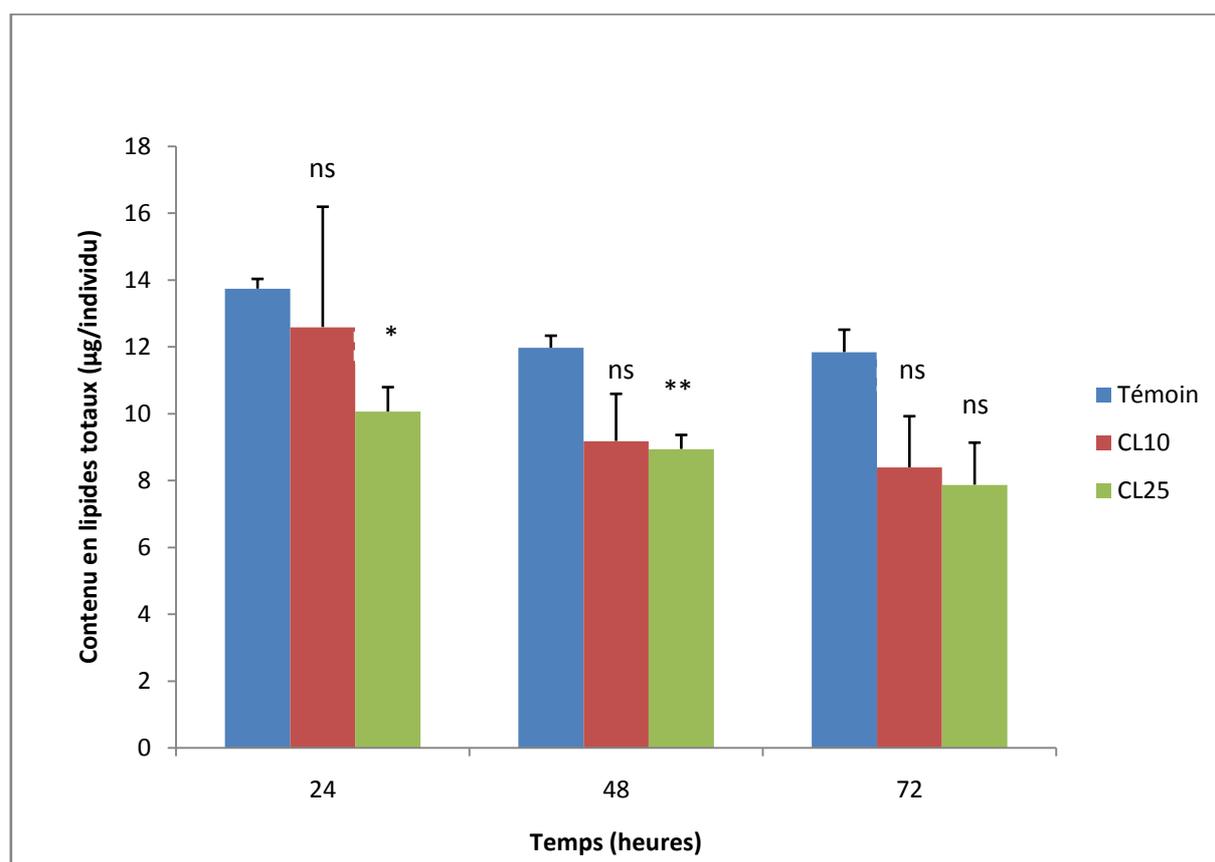
**Figure13** :Effet de l’AZAD(1%)(CL10 et CL25) sur le contenu en glucides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes de *R.dominica* à différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétition comportant chacune 10 individu). (NS : Différence non significative, \*: Différence significative ( $p<0,05$ )).

### 3.3.2. Contenu en lipide totaux :

Les résultats du dosage des lipides totaux sont mentionnés dans (tableau 11 et figure 14). Il ressort de nos résultats une diminution non significative ( $p>0,05$ ) de ce contenu chez les traités avec les deux concentrations. Par contre, chez les témoins une diminution significative ( $p=0,019$ ) est signalée au cours de la période testée (24, 48 et 72h). Le test t de Student révèle une diminution significative de ce paramètre biochimique à 24h ( $P=0,041$ ) et à 48h ( $p=0,005$ ) seulement avec la dose la plus élevée.

**Tableau 11 :** Effet de l'AZAD 1% (CL10 et CL25) sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes de *R.dominica* au cours de différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettre majuscules : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, lettre minuscule : Comparaison des moyennes un même temps entre les différentes série).

Temps	Témoins	CL10	CL25
24h	13,74 $\pm$ 0,29 a A	12,59 $\pm$ 3,6 a A	10,06 $\pm$ 0,73 b A
48h	11,97 $\pm$ 0,36 a B	9,18 $\pm$ 1,41 a A	8,94 $\pm$ 0,42 b A
72h	11,84 $\pm$ 0,67a C	8,39 $\pm$ 1,53 a A	7,87 $\pm$ 1,26a A



**Figure 14:** Effet de l'AZAD (1%) (CL10 et CL25) sur le contenu en lipides totaux ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes de *R.dominica* à différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétition, comportant chacune 10 individus). (NS : Différence non significative, \*: Différence significative ( $p < 0,05$ ), \*\*: Différence hautement significative ( $p < 0,001$ )).

### 3.3.3. Contenu en protéines totales :

Les résultats du dosage sont présentés dans le tableau 12 et la Figure 15 ;

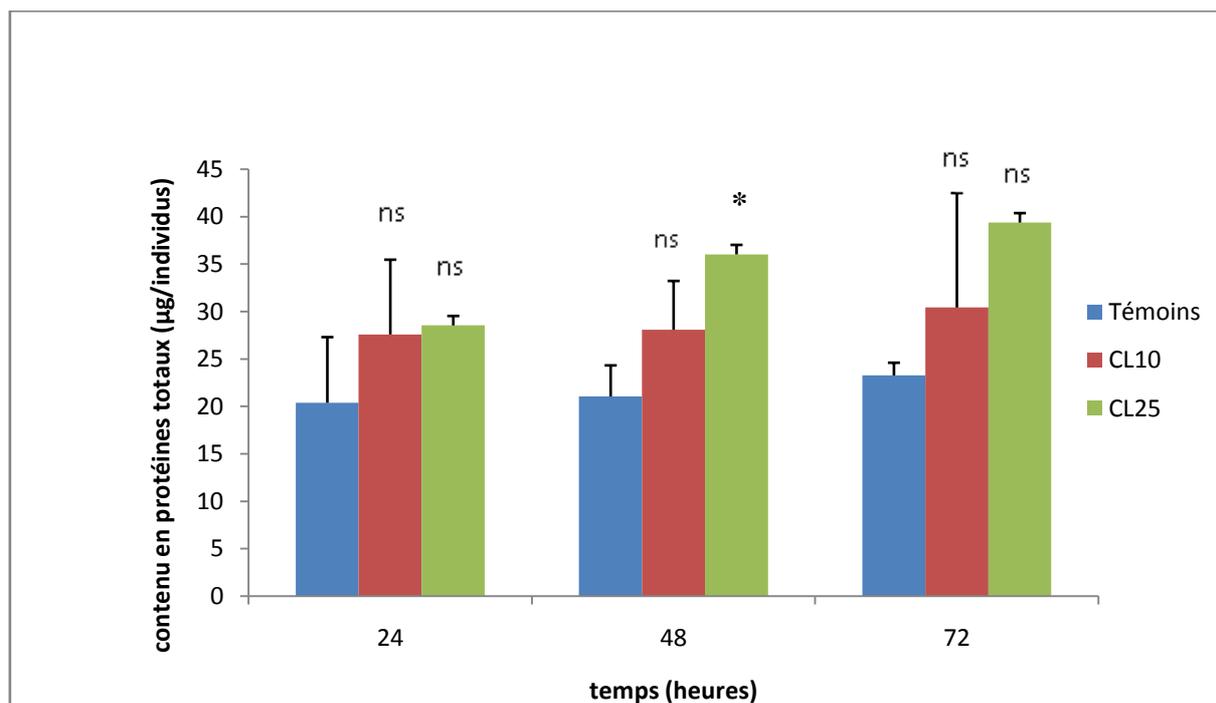
Il ressort de ces résultats une augmentation non significative ( $p > 0,005$ ) du contenu en protéines totales et cela aussi bien chez les séries témoins que chez les séries traitées (CL10 et CL25).

Le traitement par l'AZAD n'affecte pas ce paramètre biochimique, puisqu'aucune différence significative n'a été signalée à 24 et 72h pour les deux concentrations appliquées (CL10 et CL25).

Par contre, à 48h, l'AZAD induit une augmentation significative ( $p = 0,037$ ) avec la CL25.

**Tableau 12 :** Effet de l'AZAD 1% (CL10 et CL25) sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez adultes de *R. dominica* au cours de différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettre majuscule : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, lettre minuscule : Comparaison des moyennes dans un même temps entre les différentes séries).

Temps	Témoins	CL10	CL25
<b>24h</b>	20,39 $\pm$ 6,92 a A	27,59 $\pm$ 7,88 a A	28,54 $\pm$ 11,69 a A
<b>48h</b>	21,05 $\pm$ 3,28 a A	28,08 $\pm$ 5,15 a A	36,03 $\pm$ 11,69 b A
<b>72h</b>	23,27 $\pm$ 1,34 a A	30,34 $\pm$ 12,06 a A	39,38 $\pm$ 7,83 a A



**Figure 15 :** Effet de l'AZAD(1%)(CL10 et CL25) sur le contenu protéines totales chez les adultes de *R.dominica* à différentes périodes ( $m \pm SEM$ ,  $n=3$  répétition, comportant chacune 10 individus). (ns : Différence non significative, \* différence significative ( $p<0,05$ )).

### 3.4. Effet de l'AZAD (1%) sur les biomarqueurs :

L'Azadirachtine testé par ingestion avec la CL10 et la CL25 a été évalué sur les biomarqueurs enzymatiques (GSTs et LDH) et non enzymatique (MDA) à différentes périodes après traitement (24, 48 et 72h).

#### 3.4.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs :

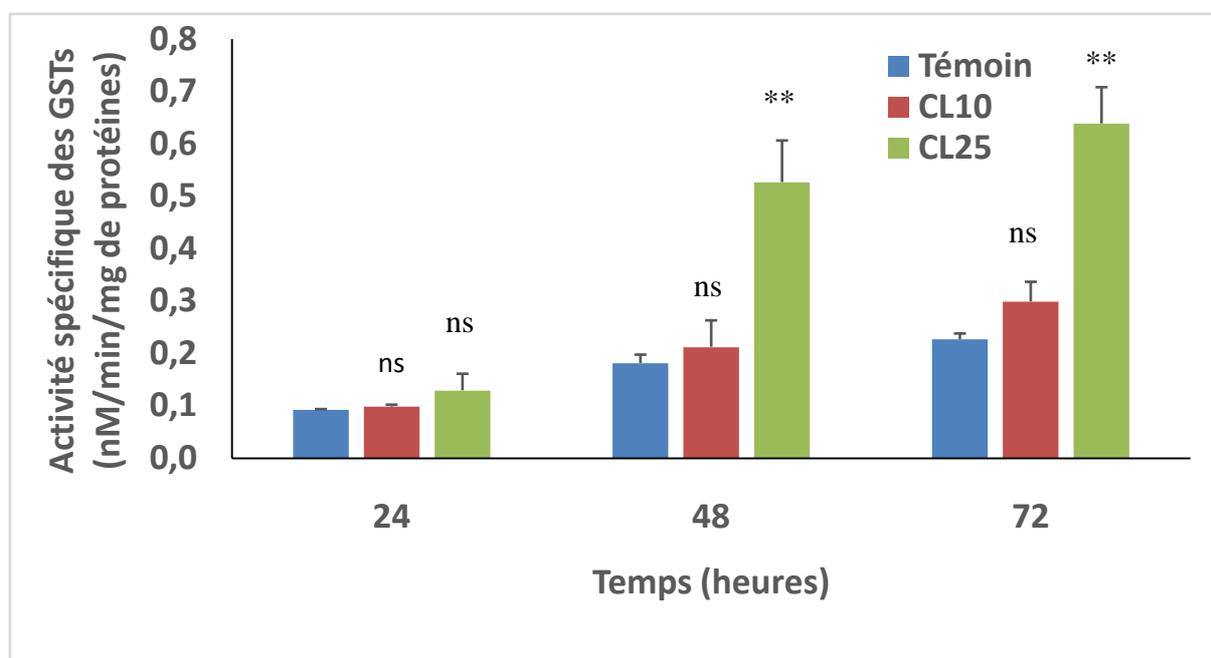
Concernant l'activité spécifique des glutathion-S-transférases chez les séries témoins et traitées, les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéine ( $\mu M/min/mg$  de protéines).

Les résultats montrent une augmentation significative de l'activité spécifique des GSTs et cela aussi bien chez les séries témoins ( $p=0,0001$ ) que chez les séries traitées à la CL10 ( $p=0,007$ ) et la CL25 ( $p=0,0015$ ).

Le tableau 13 et la Figure 16 montre une augmentation non significative ( $p>0,05$ ) chez les séries traitées à la CL10 et la CL25 comparativement aux témoins à 24h, par contre, à 48h et 72h la différence ( $p=0,007$ ) et  $p=0,0015$ ) est signalée uniquement avec la dose la plus élevée (CL25). (tableau 13, figure 16).

**Tableau 13 :** Effet de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25) sur l'activité spécifique des GSTs( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) chez les adultes de *R. dominica* au cours de différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettre majuscules : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et Lettre minuscule : Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries).

Temps	Témoins	CL10	CL25
24h	$0,092 \pm 0,0001$ a A	$0,098 \pm 0,003$ a A	$0,129 \pm 0,031$ a A
48h	$0,181 \pm 0,016$ a B	$0,212 \pm 0,050$ a B	$0,526 \pm 0,079$ b B
72h	$0,226 \pm 0,0001$ a C	$0,0075 \pm 0,0071$ a C	$0,001 \pm 0,0015$ b C



**Figure 16:** Effets de l'AZAD (1%) (CL0 et CL25), sur l'activité spécifique des GSTs( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) chez les Adultes de *R. dominica* à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$  répétition, comportant chacune 10 individus). (ns : Différence non significative ( $p > 0,05$ ) ; \*\*: Différence hautement significative ( $p < 0,01$ )).

### 3.4.2. Effet sur l'activité spécifique de la MDA :

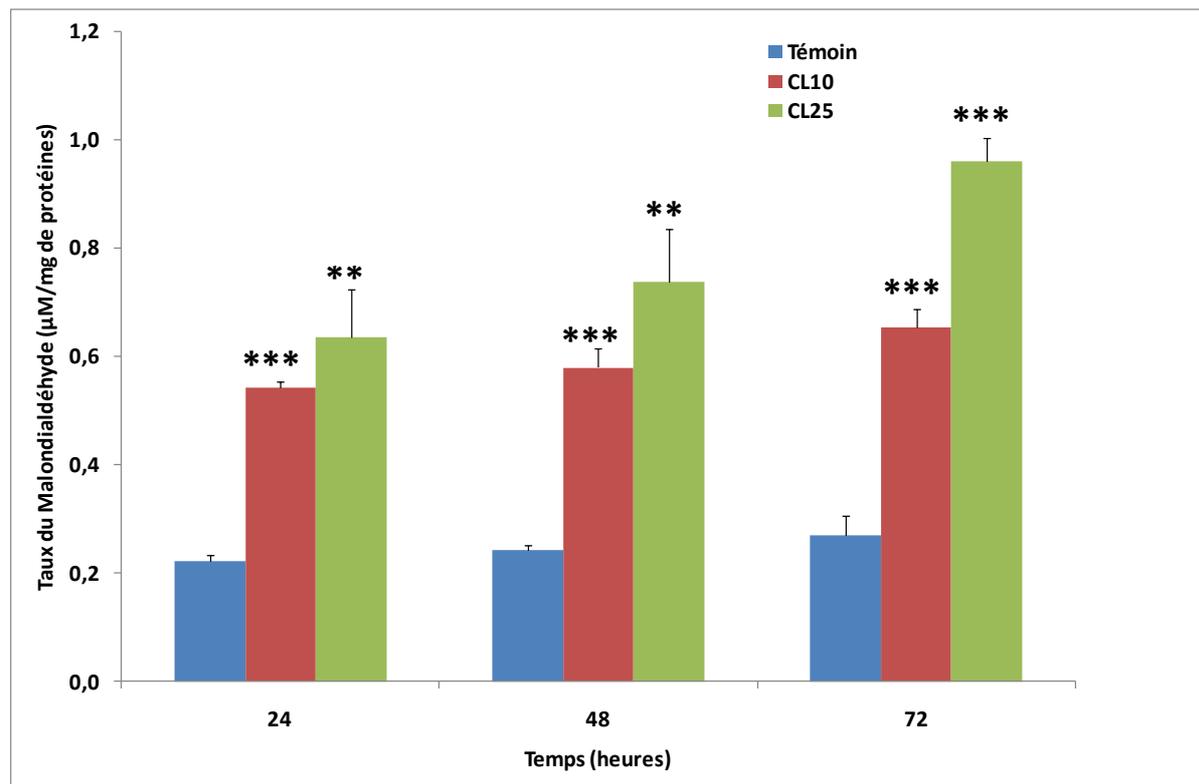
Les résultats du dosage du malondialdéhyde révèlent une variation significative aussi bien chez les séries témoins ( $p=0,001$ ) que chez les séries traitées à la CL25 ( $P=0,041$ ) au cours de la période testée. Par contre, pour les séries traitées à la CL10 L'ANOVA ne révèle aucune différence significative ( $p > 0,05$ ). (Tableau 14 et figure 17)

La comparaison des moyennes par le test « t » révèle une différence significative entre témoins et traités à la CL10 et CL25 respectivement et cela à 24h ( $p < 0,001$  et  $p=0,0048$ ), 48h

( $p= 0,0004$  et  $p= 0,0026$ ). Et 72h ( $p=0,0007$  et  $p<0,0001$ ). De plus un effet dose a été signalé à 72h ( $p=0,0022$ ).

**Tableau 14 :** Effet de l’AZAD (1%) (CL10 et CL25) sur le taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéine) chez les adultes de *R. dominica* au cours de différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$  répétition comportent chacune 10 individus). (Lettre majuscule : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série, lettre minuscule : comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries).

Temps	Témoins	CL10	CL25
24h	$0,223 \pm 0,010$ a A	$0,541 \pm 0,011$ b A	$0,634 \pm 0,089$ b A
48h	$0,243 \pm 0,009$ a B	$0,579 \pm 0,067$ b A	$0,737 \pm 0,098$ b B
72h	$0,270 \pm 0,035$ a C	$0,653 \pm 0,036$ b A	$0,960 \pm 0,042$ c C



**Figure 17:** Effets de l’AZAD 1% (CL0 et CL25), sur le taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéine) chez les adultes de *R. dominica* à différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=3$  répétition, comportant chacune 10 individus). (\*\* : Différence très significative ( $p>0,01$ ), \*\*\* : différence très hautement significative ( $p>0,001$ )).

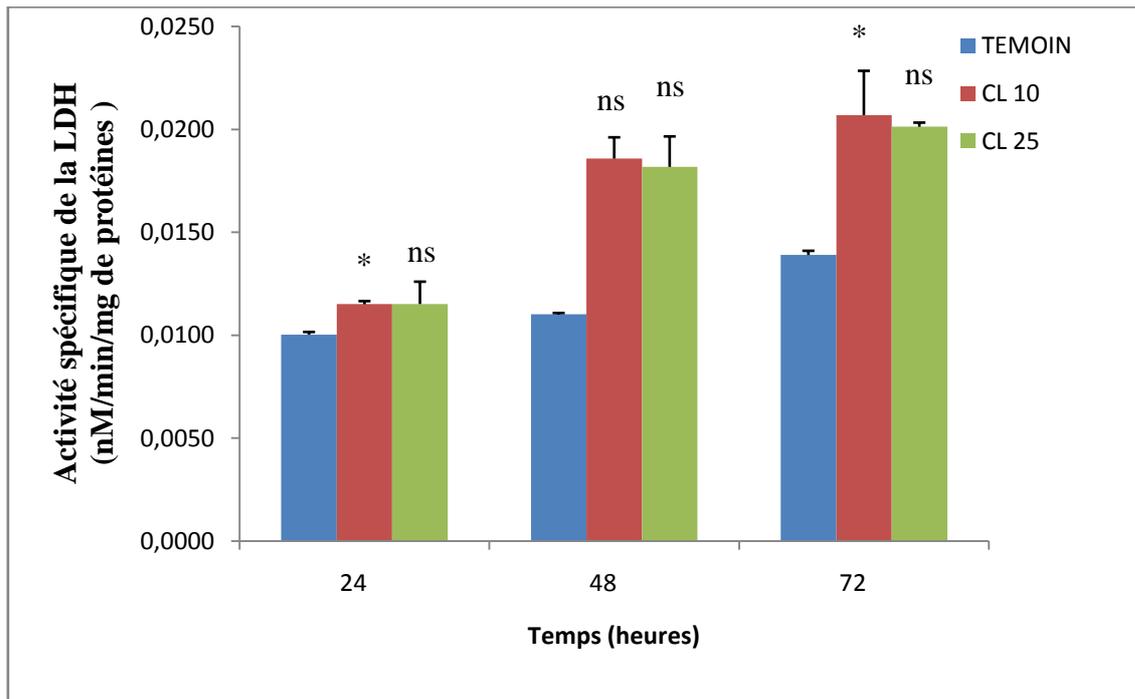
### 3.4.2. Effet sur l'activité spécifique de la LDH :

Concernant l'activité spécifique de lactate déshydrogénase, les résultats montrent une variation non significative ( $p > 0,05$ ) au cours de la période testée (24, 48 et 72h) chez les témoins par contre chez les séries traitées à la CL10 et la CL25, une augmentation significative ( $P < 0,0001$ ) de la biomarqueurs est signalée au cours de la période testée. (Tableau 15, Figure18).

**Tableau 15 :** Effet de l'AZAD 1%(CL10 et CL25) sur l'activité spécifique de la LDH ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) chez les adultes de *R dominica* au cours de différentes périodes ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n=2$  répétitions comportant chacune 10 individus). (Lettre majuscule : Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et lettre minuscule : pour la comparaison des moyennes du même temps entre les différentes séries).

Temps	Témoins	CL10	CL25
<b>24h</b>	10,44± 0,22 a A	11,33± 0,23b A	15,23± 0,77c A
<b>48h</b>	11,20±0,230 a A	18,17± 0,95a B	22,86± 1,30c B
<b>72h</b>	10,91± 0,37a A	23,92± 0,74b C	27,86± 1,09 c C

La comparaison des valeurs moyennes par le test « t » de Student révèle des différences entre les témoins et les traités (CL10 et CL25) et cela à 24 ( $p=0,00282$ ) et 48h ( $p=0,0007$ ) est 72h ( $p < 0,0001$ )



**Figure 18:** Effets de l'AZAD(1%) (CL10 et CL25), sur l'activité spécifique de la LDH ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) chez les adultes de *R. dominica* à différentes périodes ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=3$  répétition comportant chacune 10 individus). (ns: Différence non significative ( $p>0,05$ ) ; \*: Différence significative ( $p<0,05$ )).

*Discussion*



## 4. DISCUSSION

### 4.1. Toxicité de l'Azadirachtine à l'égard des adultes de *R. dominica* :

La toxicologie s'intéresse à la composition chimique et aux effets de toutes les substances toxiques connues, ainsi qu'à leurs effets post-mortem. Les tests toxicologiques ont pour objectif de déterminer le pouvoir insecticide d'une matière active à l'égard d'un insecte donné, ils sont nécessaires pour évaluer les concentrations létales (CL50 et CL90).

La toxicité de l'azadirachtine est largement rapportée dans la bibliographie. Elle varie en fonction de l'ordre de l'insecte, du stade de développement, du mode d'application (Ingestion, Topique, Fumigation) mais aussi, de la concentration utilisée (Tomé *et al.*, 2013; Abediet *al.*, 2014; Koodalingamet *al.*, 2014). L'azadirachtine a peu d'impact sur les organismes bénéfiques (Dhadialla *et al.*, 2005; Mordue *et al.*, 2005). Il a une sélectivité remarquable, et ne présente aucune toxicité à l'égard des vertébrés même avec de très fortes concentrations (Mordue *et al.*, 2005).

La toxicité de ce régulateur de croissance est liée à sa forte rétention et sa stabilité en tant que composé actif sur les organismes (Schneider *et al.*, 2004).

Dans la présente étude, une formulation commerciale d'azadirachtine, le NeemAzal, a été testée par ingestion et par fumigation sur les adultes de *R. dominica*. Les résultats montrent une augmentation des pourcentages de mortalité avec une relation dose-réponse, en effet, les valeurs des CL50 et CL90 diminuent en fonction du temps.

Les résultats obtenus chez *B. orientalis* révèlent une CL50 très élevée qui est de 277 ppm (Tine *et al.*, 2011). Plusieurs espèces de lépidoptères telle que *Schistocerca gregaria* montrent une forte sensibilité avec de très faible dose (0,007 ppm), tandis que chez les espèces d'hémiptères et de coléoptères, la CL50 est de 100 ppm (Mordue *et al.*, 2005). Cependant, d'autres espèces sont moins sensibles car chez *Damalinalimbat*, une concentration de 650 ppm réduit la population après 2 à 18 semaines de traitement (Habluetze *et al.*, 2007). Les mêmes résultats ont été obtenus sur *Damalinea ovis* (Heath *et al.*, 1995 ; Guerrini, 2000), et sur plusieurs groupes d'insectes phytophages (Liu & Stansly, 1995; Mitchell *et al.*, 2004; Kumaret *al.*, 2005). Des résultats similaires ont été également constatés après l'application de la même molécule sur un Névroptère *Ceraeochrysa claveri* (Scudeler et Santos, 2013) et *D. melanogaster* (Anjumet *al.*, 2010; Boulahbelet *al.*, 2015).

La toxicité de l'azadirachtine (NeemAzal) a été rapportée chez d'autres espèces de Diptères, comme le moustique *A. aegypti*, où la CL50 de 4,77 ppm révèle une forte sensibilité (Koodalingam *et al.*, 2014). D'autres travaux indiquent que les concentrations d'inhibition de la mue adulte (CI50), sont de l'ordre de 0,398, 0,249, 0,048 et 0,006 ppm respectivement chez *Anopheles albimanus*, *A. aegypti*, *Cx quinquefasciatus* et *An stephensi* après traitement des larves de moustique avec plusieurs formulations commerciales de l'azadirachtine (Alouani *et al.*, 2009 ; Gunasekaran *et al.*, 2009). Par contre, Tang *et al.* (2002) ont noté peu d'impact sur la survie des adultes d'un Aphidiinae, *Lysiphel bustaceipes* (Cresson), exposé à un agrume plongé dans une suspension d'azadirachtine. Il est important de noter que les différences de sensibilité des insectes aux pesticides sont dû au taux de pénétration à travers la cuticule, l'absorption des insectes, le transport dans les tissus de l'organisme, le métabolisme (Besard *et al.*, 2011), mais aussi la régulation intracellulaire, des récepteurs ou encore les canaux ioniques ciblés par les insecticides (Lavialle-Defaix *et al.*, 2010).

Chez les larves de *D. melanogaster*, l'application des extraits de Neem, par ingestion, montre une CL50 de 24000 ppm (Anjum *et al.*, 2010) ; ainsi, et malgré le mode d'application différent, le stade larvaire semble être moins sensible à l'azadirachtine par rapport au stade nymphal testé. En effet il cause une désorganisation de l'épithélium intestinal avec des effets importants au niveau de la bordure en brosse. Les travaux de Roel *et al.* (2010) ont montré que cette même molécule cause une désorganisation intestinale chez un Lépidoptère *Spodoptera frugiperda*.

#### **4.2. Effet répulsif de l'AZAD (1%) à l'égard de *R. dominica* :**

L'activité répulsive est un phénomène physiologique qui s'effectue chez les insectes comme mécanisme de défense contre les toxines sécrétées par les plantes (Ben Slimen et Baoundi, 2016). Ce potentiel de répulsion peut être utilisé pour lutter contre les dégâts causés par ces insectes ravageurs.

Les résultats obtenus montrent que l'AZAD(1%) a un effet répulsif vis à vis *R. dominica* durant la période testée (15 min, 30 min, 1h et 2 h).

L'AZAD possède plusieurs propriétés biologiques telles que l'activité antibactérienne, répulsion des insectes et perturbateur de croissance (Biswas *et al.*, 2002 ; Haque *et al.*, 2006).

Plusieurs auteurs ont testé la répulsion de certaines huiles essentielles extraites de plantes aromatique (De Feo V *et al.*, 2002) telles que *Cannamomum zylanicum* et d'*Eucalyptus*

*citriodora* qui se sont montrés très répulsifs, avec des taux de 90 % et 86.6% respectivement (Kelouche et al., 2010).

Ceci concorde avec es travaux de Cherry et Nuessly, (2010) qui montrent l'effet répulsif de l'azadirachtine à l'égard d'une espèce de Coléoptères *Melanotus communis*.

Par ailleurs, de très nombreux travaux ont mis en évidence l'activité répulsive des extraits d'une multitude d'espèces de plants sur les principaux insectes ravageurs des denrées stockées (Maharramipou et Negahban, 2005 ; Negahban et al. , 2006. Tripathiet al., 2000a,b), où Ben Slimane et Baoundi, (2016), ont signalé un maximum de répulsion de 73,33% avec la dose de 4µl chez *T. castaneum* traité par *A. herba-alba*.

#### **4.3. Effet sur la composition biochimique de *R. dominica* :**

Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses, au cours du développement (larve, puce et adulte). En effet, ces fluctuations sont liées aux différents états physiologiques de l'insecte tels que la mue, la nymphose et la diapause (Nowosielski & Patton, 1965).

Au moment où l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, au niveau cellulaire, les protéines et les enzymes cibles dont il entrave le fonctionnement normal (Haubruge & Amichot, 1998).

Le dosage des principaux constituants réalisé dans le corps entier des adultes, témoins et traités de *R. dominica*, révèle une modification non significative des réserves énergétiques ; protéines, glucides et lipides après traitement par l'AZAD (1%).

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). Le taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue, et la reproduction (Wiens & Gilbert, 1967). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steel, 1981) et constitue une source énergétique essentielle en libérant le glucose sous l'action d'une enzyme, tréhalase, sa concentration dans l'hémolymphe est déterminée par la vitesse de deux processus: son retrait pour les besoins énergétiques de l'insecte et son stockage dans le corps gras (Wyatt, 1967).

Concernant le contenu en glucides, nos résultats montrent que le traitement des adultes de *R. dominica* par l'AZAD 1% avec la CL10 et la CL25, montre une variation à 24h après traitement à la CL25.

Des travaux antérieurs réalisés au niveau de notre laboratoire, ont montré une diminution du contenu en glucides chez des espèces de moustiques, *Culiseta longiareolata* traitée par les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* (Khaled et Dib, 2015), par *Lavandula dentata* (Sahbi et Aouni, 2015) et par l'*Ocimum basilicum* (Bouzidi et Ziani, 2015). Par contre une augmentation de ce composé biochimique a été signalée chez *Cx pipiens* après traitement à l'*Ocimum basilicum* (Khamane, 2014).

De plus, les travaux de Borzouiet *al.*, (2016) ont révélé une diminution significative de ce contenu chez *Plodia interpunctella* après traitement avec *Artemisia Khorassabica* et *Vitex pseudo-negundo*. Khosravi *et al.* (2010) et Yazdani *et al.* (2013) reportent des résultats similaires sur *Glyphodespyloalis* exposé à un extrait d'*Artemisia annua* et *Rosmarinus officinalis*. Les réserves glucidiques peuvent être affectées par les huiles essentielles (Saket *al.*, 2006). Dans d'autres études, Zamani *et al.* (2011) ont trouvé que l'huile essentielle d'*Artemisia annua* induit des effets négatifs sur les réserves énergétiques de *Plodia interpunctella*. Les dérivés de l'AZAD entraînent également une diminution de la concentration en glucides chez *Ctenoparyngodonidella* (Hassanein et Okail, 2008).

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues (Mahler *et al.*, 1968). Chez les insectes, les protéines et les acides aminés jouent un rôle majeur durant les différentes phases de leur vie car ils sont caractérisés par des niveaux très élevés (Chippendale, 1970).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que le traitement par l'AZAD 1% affecte le contenu en protéines, ce qui est en accord avec les résultats obtenus chez la même espèce traitée par l'*Eucalyptus globulus* et par l'*Artemisia herba-alba* (Shiva et Oruj, 2015). De plus, une augmentation du taux de protéines a été signalée chez *D. trunculusex* exposé aux polluants environnementaux (Sifi, 2009), chez *B. germanica* traitée par le pyriproxifène, analogue de l'HJ (Aribi & Lakbar, 2001) et chez *Corcyra cephalonica* traitée par le RH-5849, agoniste des ecdystéroïdes (Ashok & Dutta-Gupta, 2000). Par contre, les travaux de Tine-Djebbar (2009), montrent que le contenu en protéines totales diminue après traitement par le méthoxyfénoside et l'halofénoside chez deux espèces de moustiques, *Cx pipiens* et *Cs longiareolata*. En outre, Rouibi, (2002), montre que le RH-0345 appliqué sur les femelles adultes de *B. germanica* nouvellement exuviées réduit le taux des protéines hémolymphatiques, et que l'Azadirachtine diminue leurs protéines ovariennes.

Par contre les travaux de Borzouiet *al.* (2016) ont montré une diminution du contenu en protéines chez *Plodia interpunctella* traitée aux huiles essentielles d'*Artemisia Khorassanica* et *Vitex pseudo-negundo*.

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

Les pesticides affectent donc le matériel génétique de base (ADN et ARN), les protéines totales, les acides aminés libres et les glucides (Ansarie et Kumar, 1996 ; 1998).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985), transportés aux corps gras, site de leurs synthèse et stockage (Keely, 1985 ; Van Hensdan & Law, 1989) vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (Kilby, 1963 ; Chino *et al.*, 1981), via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitélogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1985). Par contre Chez *Tribolium confusum*, le maximum d'acides gras est observé au stade larvaire (activité locomotrice) et au stade adulte (activité locomotrice et maturité sexuelle), durant lesquels le métabolisme est le plus intense (Beaudoin & Lemonde, 1970).

Les travaux de Borzaoui *et al.* (2016) montrent que les huiles essentielles extraites de *A. khorassanico* et *V. pseudo-negundo* affectent le contenu en lipides chez la larve du quatrième stade de *P. interpunctella*.

Dans notre laboratoire, plusieurs plantes ont été testées sur diverses classes d'insectes telles que les Culicidae, où l'application des huiles essentielles a provoqué des perturbations du contenu en lipides chez *Cx pipiens* traité par *Eucalyptus globulus* (Khaled et Dib, 2015), par *Lavanduladentata* (Sahbi et Aouni, 2015) et chez *Cs longiareolata* traité par *Ocimum basilicum* (Bouzidi et Ziani, 2015).

En conclusion, on peut suggérer que les perturbations notées dans la composition biochimique de *R. dominica* sont probablement liées à des interactions avec l'action des neurohormones et hormones qui modulent les voies métaboliques.

#### **4.4. Effet sur les biomarqueurs :**

La lutte contre les organismes nuisibles (rongeurs, arthropodes vecteurs de maladies ou destructeurs de récoltes) se traduit invariablement par la sélection d'individus résistants, c'est à dire capable de survivre et de se reproduire malgré la présence dans leur environnement de composés toxiques pouvant tuer des individus dits sensibles (Magninet *et al.*, 1985).

Plus de 500 espèces d'arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide (Soderlund, 1997). En dépit des diversités chimiques des insecticides et

biologiques des ravageurs, un nombre de mécanismes de résistance sont capables de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Ces mécanismes sont généralement classés en trois catégories:

- ◆ Le premier est dû à une diminution de la pénétration cuticulaire qui est un mécanisme de résistance de moindre importance mais qui peut contribuer en association avec d'autres à augmenter le niveau de résistance (Georghiou, 1994; Pasteur & Reymond, 1996; Taylor & Feyereisen, 1996).
- ◆ Le deuxième mécanisme, relativement le plus important, assure une bonne détoxification des différents tissus de l'organisme. Il est lié à une augmentation du taux des diverses enzymes de détoxification (Soderlund, 1997) telles que les monooxygénases à cytochrome P450 (Kassiet *al.*, 1994; Scott, 1999), l'estérase (Field *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 1999, Harold & Ottea, 2000), la glutathion-S-transférase (Parapanthadara *et al.*, 2000; Yu & Abo-Elghar, 2000; Sun *et al.*, 2001), et la lactate déshydrogénase entre autre (Saleem & Shakoori, 1987; Ribeiro *et al.*, 1999);
- ◆ Enfin, le troisième mécanisme, aussi important que le second, traite de l'altération des sites cibles et leur insensibilité aux insecticides. Parmi ces derniers, on note les canaux sodium, les récepteurs GABA et surtout une enzyme du système nerveux, l'acétylcholinestérase (Rufingier *et al.*, 1999; Tomita *et al.*, 2000; Siegfried & Scharf, 2001).

#### **4.4.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs :**

Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire. Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion-S-transférase. Les enzymes du système de détoxification sont aussi beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition à un xénobiotique (Badiou, 2007 ; Dannauet *al.*, 2003).

Les insecticides sont soumis à une panoplie de réactions enzymatiques visant à détoxifier le produit initial et accélérer son excrétion. Les enzymes impliquées, se divisent en 2 groupes ; enzymes de la phase I dites les enzymes fonctionnelles (oxydase, réductase, hydrolase) permettant de démasquer les éléments électrophiles des insecticides, conférant à la molécule une augmentation d'hydrophilie, et les rendant moins toxiques, et les enzymes de la phase II, dites les enzymes de la conjugaison qui fixe des dérivés endogènes hydrophiles comme le

sucres, les acides aminés (glutathion, glucoside, phosphate, sulfate ou acide glycuronique) sur les groupements fonctionnels révélés en phase I. Ces enzymes de conjugaison sont des transférases dont les plus connues sont les GSTs (Cassier *et al.*, 1997).

Les GSTs sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans l'étape de conjugaison du «glutathion réduit » à un grand nombre de xénobiotiques (Boyer, 2006). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules, du corps gras et des muscles alaires (Haubruge&Amichot, 1998). Elles ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (Jakoby&Habig, 1980). Ceci résulte en synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement éliminable. Donc, le rôle majeur du glutathion est de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Habig *et al.*, 1974). Les GSTs permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans la biosynthèse des hormones (George, 1994; Board& Menon, 2013).

L'activité spécifique de la GST chez les adultes traités de *R. dominica* marqué une augmentation significative au cours de la période testée et qui se traduit par une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez *Culex pipien* traité par *Ocimum basilicum* (Sayada&Messai, 2015), *Lavanduladentata* (Gheraibia&Abaidia, 2014) et *Laurusnobilis* (Attia et Kouider, 2016), et chez *Cs longiareolata* traitée par *Menthapiperita* (Chettat, 2013), *Ocimum basilicum* (Kemache&Meziani, 2015) et *L. dentata* (Gouasmia&Bouchagoura, 2013).

Cette observation a été également signalée chez *B. germanica* traitée par l'acide borique (Habes *et al.*, 2006), un pyréthrianoïde, la cyperméthrine (Valles *et al.*, 2000), l'azadirachtine (Saci, 2006), l'acétamipride et le benfuracarbe (Morakchi, 2002), le spinosad (Meghlaoui&Mansouri, 2010), mais aussi par le propoxur (Valles *et al.*, 1999 ; Lee *et al.*, 2000).

L'augmentation de l'activité spécifique des GSTs a aussi été notée chez d'autres insectes traités, avec différentes formulations commerciales d'azadirachtine, comme chez les larves de *Xanthogalerucaluteola* (Coléoptère) traités avec l'Achook (Valizadeh *et al.*, 2013), chez les adultes de *Blattellagermanica* traités avec l'azadirachtine (Tine, 2013) ou encore chez les larves de *H. armigera* (Lepidoptère) traités avec l'Huile de Neem (Waret *et al.*, 2014).

#### 4.4.2. Effet sur l'activité spécifique du Malondialdéhyde :

Le malondialdéhyde est le marqueur le plus utilisé de la peroxydation lipidique notamment par la simplicité et la sensibilité de la technique (Nourooz-Zadehet *al.*, 1996)

La peroxydation lipidique est un processus complexe qui peut créer des altérations de la membrane cellulaire telles que la modification de sa fluidité, l'inactivation de récepteurs ou d'enzymes conduisant à la formation d'importantes lésions au niveau des tissus et des organes (Van der Vaart *et al.*, 2004). Le malondialdéhyde (MDA), formé lors de l'action des radicaux libres sur les acides gras polyinsaturés, est largement utilisé comme biomarqueurs de la peroxydation lipidique et plus généralement d'un stress oxydatif (Zielinski&Pörtner, 2000 ; Viarengo *et al.*, 2007). Le MDA peut interagir avec les acides aminés, les protéines, les phospholipides et l'ADN (Storey, 1996 ; Stohset *al.*, 2000), pour former des biomolécules toxiques, non dégradables par l'organisme et qui s'accumulent avec l'âge (Leibovitz& Siegel, 1980). La grande quantité de lipides, leur rôle essentiel dans l'organisme et la richesse de nos membranes cellulaires en ce composé un bon indicateur du stress oxydatif (Michel, 2009).

L'analyse de nos résultats montre une variation significative après traitement par l'AZAD 1% du taux du MDA au cours de la période testée, ceci révèle que l'AZAD induit un stress oxydatif qui conduit à la peroxydation lipidique.

En accord avec nos résultats, Bensafi-Gheraibia *et al.* (2013) ont trouvé que le spiromesifène provoque une augmentation du MDA chez *D. melanogater*.

L'exposition aux métaux lourds induit une peroxydation lipidique chez *Cantaraeusapertus* (Mleiki et Trigui El Menif, 2010), chez *Pistiastratiotes* (Yong *et al.*, 2012), chez *M. galloprovincialis* (Viarendgoet *al.*, 2007) et chez *Donax trunculus* (Sifi, 2009 ; Nadir et Mukrim, 2012). De plus, une augmentation du taux du MDA a été signalé dans les tissus des poissons *Cyprinus carpio L* traités par deux doses létales (50 et 100 µg/L) de carbofuran (Ensibilet *al.*, 2010). Il a été rapporté que l'exposition à un xénobiotiques peut induire des dommages oxydatifs dans différents tissus, entraînant une augmentation de la peroxydation lipidique des membranes (Shukla *et al.*, 2000 ; Gérer *et al.*, 2002). De plus, les résultats de plusieurs travaux renforcent l'implication du stress oxydatif et en particulier, la peroxydation lipidique dans la toxicité des pesticides.

#### **4.4.3. Effet sur l'activité spécifique de la LDH :**

Les lactates déshydrogénases (LDH) sont des enzymes qui contribuent à faciliter le processus de transformation du sucre en énergie, afin que les cellules puissent les utiliser. Les LDH sont présents dans des organes et tissus très divers, notamment le foie, le cœur, le

pancréas, les reins, les muscles squelettiques, le cerveau et les cellules sanguines (Judith, 2012).

Le lactate déshydrogénase est l'enzyme responsable de la régénération du  $\text{NAD}^+$  à partir du NADH pour assurer la continuation du cycle glycolytique (Gagnon & Holdway, 1999). Elle appartient à la famille des oxydoréductases, décrite pour la première fois par Meyerhof en 1919. La mesure de l'activité LDH a été largement utilisée en biologie clinique comme diagnostic des lésions cellulaires et tissulaires (Tietz, 1987 ; Asztalos *et al.*, 1999 ; Gupta *et al.*, 1991).

Concernant nos résultats, 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.

Les résultats sont en accord avec ceux obtenus par Long *et al.* (2003), qui signalent une augmentation suivie d'une diminution de l'activité LDH hépatique chez la moule, *Mytilus edulis* exposée à différentes concentrations d'hydrocarbures. Selon Ribeiro *et al.* (1999), l'activité de la LDH est altérée par les insecticides organophosphorés et organochlorés. L'augmentation de l'activité de ce paramètre après traitement a été enregistrée chez *Blattelagermanica* traité avec l'acide borique (Sifi, 2002) et chez *Macquarianovemaculeata* après exposition au pétrole brut (Cohen *et al.*, 2001).

Les travaux de Kilani-Morakchi (2007) ont montré une augmentation de la LDH à 24 heures, suivi d'une inhibition après 48 heures de traitement des adultes de *B. germanica* par l'acide borique. Cette réduction pourrait s'expliquer par une baisse du métabolisme glucidique conduisant probablement à un affaiblissement de l'organisme et lié à la diminution ou à l'arrêt de l'alimentation vu la désorganisation de la structure de l'intestin (Habes *et al.*, 2006). L'azadirachtine antagoniste des ecdystéroïdes inhibe l'activité spécifique de la lactate déshydrogénase chez *Cnaphalocrocismedinalis* (Senthil Nathan *et al.*, 2006), et chez *Spodopteralittoralis* (Fahmy and dahi, 2009).

Cependant, un inhibiteur de la synthèse de la chitine le diflubenzuron ou encore un pyréthrianoïde, l'ambush entraînent l'augmentation de cette activité chez *Tribolium castaneum* (Saleem & Schakoori, 1987). Par contre les travaux de Surendra (2000) marquent une inhibition de la LDH chez *B. mori* traité par deux organophosphorés, le fenitrothion et l'éthion. Des résultats similaires ont été rapportés par Azmiet *et al.* (2002) après le traitement des larves de *Culex fatigans* avec un organochloré (DDT), un organophosphoré (le malathion) et un pyrétrinoïde (la cyfluthrine), et par Maiza *et al.* (2003) après le traitement de *Blattelagermanica* traitée à l'indoxacarbe et au Spinosat.



*Conclusion  
et  
Perspectives*



## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez une espèce de Coléoptère ravageur des denrées stockées *Rhyzoperthadominica*, l'effet d'azadirachtine (anti JH et anti écdystéroïde) sur la toxicité (par ingestion et par fumigation), la répulsion, la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) et l'activité spécifique de quelques biomarqueurs enzymatiques (Glutathion-S-Transférases, Malonaldéhyde et Lactate Déshydrogénase).

L'application de l'azadirachtine (1%) par ingestion et par fumigation sur les adultes de *Rhyzoperthadominica* nous a permis d'établir les concentrations sous létales et létales. Le traitement manifeste une toxicité avec une relation dose-réponse ; de plus, les concentrations létales et sous létales diminuent en fonction du temps après traitement. De plus, il possède une activité répulsive vis-à-vis de cette espèce.

L'azadirachtine testée avec les deux concentrations sous létales (CL10 et CL25) sur les adultes de *R. dominica*, semble affecter relativement la composition biochimique (Glucides, lipides et protéines) des individus traités comparativement aux témoins au cours de la période testée.

De plus, l'évaluation de l'effet de l'AZAD (1%) sur les biomarqueurs du stress oxydatif, révèle une induction du système de détoxification par le biais d'une augmentation de l'activité spécifique des GSTs, du Malondialdéhyde et de la Lactate Déshydrogénase.

En perspectives, il serait intéressant de compléter cette recherche, en évaluant le pouvoir anti appétant de ce produit, en déterminant la qualité de nourriture ingérée et en dosant les différents enzymes digestives. De plus, l'effet de cette molécule sur le potentiel reproducteur de *R. dominica* s'avère indispensable.

# Références Bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques :



**Abbott W.S (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J.Econ.Entomol.* ; **18** :265-267.

**Abedi Z ., Saber , M .,Gharekahani G ., mehravar ., A Kamita , S-G-2014.**Lethal and sublethal effects of azadiractin and cypermethrin on *Habrobraconhebetor* ( Hymenoptera . Braconidae ) . *Econ Entomol.* 107 (2) : 638-645.

**Ahmad N., Ansari M.S., Nazrussalam. 2012.** Effet of neemarin on life table indices of *Plutella xylostella* (L.). *Crop Prot.* **38** :7-14.

**AIDANI Housseyn., 2015.** *Effet des attaques de Capucin des grains (Rhizopertha dominica) sur les céréales stockées. « Estimation sur la perte pondérale et le pouvoir germinatif Cas de blé dur dans la région de Tlemcen »*

**Ali A.,Ahmad F., Biondi A.,Wang Y &Desneux N.,2012.**Potential for using *Datura alba* leaf extracts against two major stored grain pests,the khapra beetle *Trogoderma granarium* and the rice weevil *Sitophilus oryzae*. *Journal of Pest Science.*, **85** : 339-366.

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

**Anjum S.I.,Yousef M.J.,Ayaz S., Siddiqui B.S.2010.**Toxicological evaluation of chlorpyrifos and neem extract ( biosal b ) against 3<sup>rd</sup> instars larvae of *Drosophila melanogaster*. *AnimPT Sci* .20 (1) : 9-10

**Ansari MA & Razdan RK (1998)** Seasonal prevalence of *Aedes aegypti* in five localities of Delhi, India. *Dengue Bulletin* 22, 28–32

**Aribi N. & Lakbar C. 2001.** Effets du pyriproxifène sur certains aspects physiologiques du développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Synthèse.*, **9**: 78 - 94.

**Ashok M., Dutta-Gupta A.P.A.R.N.A., 1991.** *In vitro* effect of nonsteroidal ecdysone agonist RH 5849 on fat body acid phosphatase activity in rice moth, *Corcyra cephalonica* (Insecta). *Biochemi. int.*, 24(1), 69-75.

**Asztalos B., Nemcsók J.G., Benedeczy I., Gabriel R., Szabó A. & Refaie O.J., 1999.** The effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19(2) : 275-282.

**Attia Laila., Kouider Sofia.,2016.** Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Toxicité, morphométrie,

biochimie et biomarqueurs Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, 72 : 248 - 254.

**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. J. Zool*, 26(1), 97-100.

## B

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

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

**Banerjee A., Manna, S. & Saha, S.K. 2014.**Effect of aqueousextract of azadirachtaindica A. Juss (neem) leaf on oocyte maturation, oviposition, reproductive potential sandembryonic development of a freshwaterfish ectoparasite *Argulusbengalensis* Ramakrishna, 1951 (Crustacea:Branchiura). *ParasitolRes.* 113(12): 4641-4650.

**Beaudoin & Lemonde., 1970.** Evolution des glycérides et des acides gras durant la croissance et la métamorphose de *Tribolium confusum*. *J. Insect. Physiol.*, 16: 71–78.

**Benjamin Lisan., 2011** INVASIVE SPECIES RISKS,

**Bensafi-Gheraibia, H., Menail, A.H. & Soltani, N. (2013).** Activité d'un inhibiteur de la synthèse des lipides (spiromesifen) chez *drosophila melanogaster* : taux et peroxydation lipidiques et effet sur la descendance.,*bull. soc. zool. fr.*,**138 (1-4):** 189-199.

**Besard I., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G. & Smagghe, G. 2011.** Lethal and sublethal sideeffect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest Manag Sci.* **67(5):** 541-547.

**Biswas K. ; Chattopadhyay, I. ; Banerjee, R.K. ; Bandyopadhyay, U., 2002.**Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*).*Current Sci.* ; 82(11) : 1336-1345.

**Board P. G.,Menon. D., (2013)** A fluorometric method to quantify protein glutathionylation using glutathione derivatization with 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde. *Anal. Biochem.* 433, 132–136.

**Borzoui E., and B. Naseri. 2016.** Wheat cultivars affecting life history and digestive amylolytic activity of *Sitotroga cerealella* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae). Bull. Entomol. Res. 106: 464–473.

**Boulahbal B ., Aribi N., Kilani Morackchi S., Soltani N . 2015.** a.Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20 hydroscycodyose Afr. Entomol.23 :224-233

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

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

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

### C

**Cantrell C.L., Dayan E.F. & Duke S.O. 2012.** Natural products as sources for new pesticides. J Nat Prod.75(6): 1231-1242.

**Cassier P., La font R., Des camps M.,Porchet M. & Soyez D. (1997).** La reproduction des invertébrés : stratégies, modalités et régulation fondamentale et appliquée. *Edition Masson.*, 354 pages.

**Cherry R. & Nuessly G., 2010.** Repellency of the biopesticide, azadirachtin, to wireworms (Coleoptera: Elateridae). Florida Entomol., 93(1), 52-55.

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

**Chino H., Katase H., Downer R.C. & Hard Takahashi K., 1981.** Diacylglycerol carrying lipoprotein of haemolymph of the American cockroach: Purification, characterisation and function. *J. Lipid Res.*, **22**: 7- 15.

**Chippendale G.M., 1970.** Metamorphic changes in Fat body proteins of the south western corn border, *Diatraea grandiosella.*,*J. Insect physiol.* **16** : 1057 -1068.

**Cohen A.M., Nugegoda D. & Gagnon M.M., 2001.** Metabolic responses of fish following exposure to two different oil spill remediation techniques. *Ecotoxicol. Environ. Safety.*, 48: 306-310.

## D

**Dannau M., Leenaers L., Amichot M. & Haubruge E. (2003).** Biomarqueurs d'exposition en milieu terrestre : impact d'hydrocarbures halogénés sur l'activité de trois systèmes enzymatiques chez *Drosophila pseudoobscura*. *Environnement, Risque et Santé.*, **2 (6)** : 344 - 349.

**De Feo V, Capasso A, De Simone F, Pizza C.** Ethnobotany and the search of new drugs: some psychoactive plants in the folkloric medicine of the northern Peruvian Andes. *Acta Phytotherapeutica*. 2002;1:10–25.

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

**Denardi S.E., Bechara G.H., Oliveira P.R. & Camargo-Mathias M.I. 2010.** Azadirachtaindica A. Juss(neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. *Exp Parasitol*. 126(4):462–470.

**Denardi S.E., Bechara G.H., Oliveira P.R. & Camargo-Mathias M.I. 2010.** Azadirachtaindica A. Juss(neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. *Exp Parasitol*. 126(4):462–470.

**Desneux N., Decourtye A., & Delpuech J.M., 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* ., **52**: 81-106.

**Dhadialla T.S., Retnaharan A., Smagle G. 2005.** Insect growth-and development disturbing insecticides. In : Gilbert, L.I., Kostas, I & Gill, S. (Eds). *Comprehensive Insect Molecular Science*, Elsevier, Oxford, UK. **6** :55-116.

**Dhadialla T.S., Retnaharan A., Smagle G. 2005.** Insect growth-and development disturbing insecticides. In : *Comprehensive Insect Molecular Science* (Gilbert, L.I., Kostas, I & Gill, S., eds). **6** :55-116. (ISBN 0-44-451526-7).

**Dimetry N.Z. 2014.** Different plant families as bioresource for pesticides. In : Singh, D. (Ed). *Advances in Plant Biopesticides*. Springer, New York, Dordrecht, London. 1-20.

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

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

## E

**Ensibil C., Hernández Moreno C., Soler Rodríguez D., Míguez Santiyán F., Daly Yahya P., & Pérez-López M.N.** (2010). Modulatory effects of carbofuran on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in *Cyprinus carpio liver*. 2<sup>ème</sup> Congrès Franco Maghrébin de Zoologie et 4èmes Journées Franco-Tunisiennes de Zoologie.

**Fahmy N.M., Dahi H.F.**, 2009- Changes in detoxifying enzymes and carbohydrate metabolism associated with spinetoram in two field-collected strains of *Spodoptera littoralis* (Biosd.)- *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, **1** :15-26

**FAO**, 2016 (<http://www.fao.org/docrep/005/y1390f/y1390f00.htm#Contents> ).

**Field L. M., Blackman R. L., Tyler-Smith C. & Devonshire, A. L.** 1999. Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistance *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*, **339**: 737-742.

## G

**Gagnon M. M., and Holdway D. A.** (in press). MFO induction in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during and after exposure to Bass Strait crude oil. *Aust. J. Ecotoxicol.*

**George S.G.**, 1994. Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugating enzymes in fish. In Malins, D.C., Ostrander, G. K. *Aquatic. Toxicology, Molecul. Biochemand Cell. Perspect.* Lewis, Boca Raton, FL, pp. 37-85.

**George S. G. and Buchanan G.** (1990) Isolation, properties and induction of phase liver cytosolic glutathione S-transferase *Fish Physiol. Biochem.* 8, 437-449

**Gererrini V.H.** 2000. Effect of azadiractin on *Damalinaovis* in sheep .*J.Vet.Res.H* : 133-138

**Géret F., Serafim A., Barrerira L., & Bebianno M.J.**(2002). Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates*. *Mar. Environ. Res*, 54 : 413-417.

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

**Gheorghui M.** BCG-induced mucosal immune responses. *Int J Immunopharmacol* 1994;16 (56):435-44

**Gheraibia S. & Abaidia W.**, 2014. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* à l'égard de moustique *Culex pipiens*. Mémoire du diplôme de Master. Université de Tébessa.

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

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

**Gupta R. C., Goad J. T., Kadel W. L.**, 1991. *In vivo* alterations in lactate deshydrogenases(LDH) and LDH isoenzymes patterns by acute carbofuran intoxication. *in*: Ribeiro B.,Guilhermino L., Sorsa J. P. and Soares A. M. V. M., (Ed). Novel bioassay based onacetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity ofchemicals to soil isopods. *Ecotox. Envir. Safety.*, 44, 287-293.

## H

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

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

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

**Hanluetzel A.,Carnevali F.,Lucantoni L.,Grana L., Attili A.R.,Archilei F., Antonini M., Valbonesi A.,Abbadessa V., Esposito F & Van der Esch S.A.** (2007). Impact of the botanical insecticide Neem Azal® on survival and reproduction of the biting louse *Damaliinia limbata* on angora goats. *Veterinary parasitology*, **144**(3-4), 328-337.

**Haque A., Sadeghzadeh J., & Khatibi A.** (2006). Identifying Potentiality Online Sales In Malaysia: A Study On Customer Relationships Online Shopping. *Journal of Applied Business Research*, 22(4), 119-130.

**Harold J.A. & Ottea J.A., 2000.** Characterization of esterases associated with profenofos resistant in the tobacco budworm *Heliothis virescens* (F). *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, **45**: 47-59.

**Hassanein, H.M.A. and Okail, H.A. (2008):** Toxicity determination and hypoglycaemic effect of neem biopesticide on the grass carp “*Ctenopharyngodon idella*”. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, 1(2): 37–49.

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

**Heath A.C., Lampkin N., Jowett J.H., 1995.** Evaluation of non-conventional treatments for control of the biting louse (*Bovicola ovis*) in sheep. *Med. Vet. Entomol.* 4, 407–412.

**Hill B. R., Lévi C., 1954.** In: *practical clinical enzymology*. J. King., 1965. *Group Pathology Department, North Lonsdale Hospital*. D. VANNOS TRAND Compunoy LTD London.

## I

**Islam M.S., Hasan M.M., Lei C., Mucha pelzer T., Mewis I., & Ulrichs C., 2010.** Direct admixture toxicity of diatomaceous earth and monoterpenoids against the storage pests *Collosobruchus maculatus* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Pest Science.*, **83** :105-12.

## J

**Jakoby W.B. & Habig W.H., 1980.** Glutathion transferase. In Jakoby, W. B. *Enzymatic basis of detoxification*. Academic press. New York., **2** : 63-94.

## K

**Kassi N., 1991.** This Land Has Sustained Us, *Alternatives.*, 18 (**2**): 20-21.

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

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

**Khaled I. & Dib D., 2015.** Evaluation de l’activité des huiles essentielles de *Eucalyptus globulus* à l’égard d’une espèce de moustiques *Culex pipiens* : toxicologie, développement, morphométrie et biochimie. Mémoire de Master. Université de Tébessa. p : 39-44.

**Khamene I.** 2014. Etude de l'activité insecticide d'extrait de l'*Ocimum basilicum* à l'égard d'une espèce de moustiques *Culex pipiens*. Mémoire du diplôme de Master. Université de Tébessa 43p.

**Khosravi A., Ghayoomi M., McCartney J.S., and Ko H.-Y.** (2010). "Impact of effective stress on the dynamic shear modulus of unsaturated sands." *GeoFlorida 2010 (GSP 199)*. Feb. 20-24. ASCE. 410-419.

**Kilani-Morakchi S.,** 2007. Effets de trois groupes de pesticide sur différents aspects physiologiques des adultes de *Blattella germanica*: Reproduction, biomarqueurs enzymatiques et hydrocarbures cuticulaires. Thèse de Doctorat. *Université d'Annaba, Algérie*, 137 p.

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

**Kljajic P.,&Peric I.,**2006.Susceptibility to contact insecticides of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) originating from different locations in the former yugoslavia. *Journal of Stored Products Research*.

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

**Kulkarni, J., Kapse, N. &Kulkarni, D.K.** 2009. Plant based pesticides for control of *Helicoverpaarmigera* on cucumissativus. *AsianAgric Hist.* 13(4): 327–332.

**Kumar S., Raman R.P., Pandey P.K., Mohanty S., Kumar A. & Kumar K.** 2013. Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish. Shellfish. Immunol.* **34** (2): 564-573.

**Kumar S., Raman R.P., Pandey P.K., Mohanty S., Kumar A. & Kumar K.** 2013. Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish. Shellfish. Immunol.* **34** (2): 564-573.

## L

**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 decarbomethoxylatedJW062 (DCJW) in insect pacemaker neurons?. *J Pharmacol Exp Ther.* **333**(1): 264-272.

**LeMaghreb,2016**,([http://lemaghrebdz.com/page=detail\\_actualite&rubrique=Agriculture&id=79331](http://lemaghrebdz.com/page=detail_actualite&rubrique=Agriculture&id=79331)).

**Lee C.Y., Hemingway J., Yap H.H. & Chong N.L.** (2000). Biochemical characterization of insecticide resistance in German cockroach, *B. germanica*, from Malaysia. *Medical Veterinary. Entomol.*, **14**: 11-18.

**LEIBOVITZ B.E. & SIEGEL B.V. (1980).**- Aspects of free radical reactions in biological systems : aging. *J. Geront.*, **35**, 45-56

**Long S.M., Ryder K.J., Holdway D.A., 2003.** The use of respiratory enzymes as biomarkers of petroleum hydrocarbon exposure in *Mytilus edulis plumulatus*. *Ecotox. Envir. Safe*, **55**, 261-270.

**Lowery D.T. & M.J Smirle. 2000.** Toxicity of insecticides to obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, larvae and adults exposed previously to neem seed oil. *Entomol. Exp. Appl.* **95**: 201-207.

#### M

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

**Maharramipour S. Negahban M.** Efficiency of essential oil from *Artemisia sieberi* against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). The 5th Asia-Pacific Congress of Entomology – Insect, Nature and Humans. 2005 Oct 18–21; Jeju, Korea.

**Mahler H. & Cordes E., 1968.** Biological chemistry, Harper and Row.

**Maiza A., Aribi N., Smaghe G, Kilani-Morakchi S., Bendjedid M and Soltani N (2013)** Sublethal effectes on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroachers *Blatella germanica*. *Bull Insectology*.**66**(1). p.11-20.

**Mc Donald L.L.,GUYR H. et SPEIRE R. D.1970.** Preliminary evaluation of new candiolate materials as toxicants, sepellent and attaracts against stored product insect marketing Res.189p.

**McDonald LL, Guy RH. Speirs RD.** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Washington, D.C.: Agricultural Research Service, U.S. Dept. of Agriculture; 1970.

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

**Michel GARRAU, Fabrice ROBERT, Karine BEBIN, Jean-Michel GARRAU, Jean-François GUEROT, Roland FORET, Catherine GARREL.** 2009. Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. 174-178.

**Mleiki, A & Trigui El Menif, N.** (2010). Effet d'une alimentation contaminée par le plomb et le cadmium sur l'activité enzymatique du gastéropode terrestre : *Cantareus apertus* en milieu contrôlé. 2ème Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et 4èmes Journées Franco-Tunisiennes de Zoologie.

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

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

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

**Morgan E.D. 2009.** Azadirachtin, a scientific gold mine.Bioorg Med Chem. 17(12): 4096-4105.

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

## N

**Nadir M. & Mukrim A. (2012).** Impact des eaux usées traitées du grand Agadir : techniques d'évaluation utilisées. 2 ème Colloque International sur la Gestion et la Préservation des Ressources en Eau, Meknès. Faculté des Sciences. Université Moulay Ismaïl.

**Negahban M, Moharrampour S, Sefidkon F.** Insecticidal activity and chemical composition of Artemisia sieberi Besser oil from Karaj, Iran. J Asia-Pac Entomol 2006; 9(1): 61-6.

**Nourouz –Zadeh J, Tajaddidi – Sarmadi J, Lingkle, Wolff SP (1996).** Low density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxydes in plasma. *Biochem J.* **313** : 781-786.

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

## P

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

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

**Pavela R.,** 2007. Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technology.*, **1** :47-52.

**Pimentel M.A.G., Faroni L.R.D., Gudes R.N.C., Sousa A.H., & Totola M.R.,** 2009. Phosphine Resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research.*, **45**:71-74.

## R

**Rebeiro S., Guilhermino L., Sousa J.P. & Soares A.M.V.M.,** 1999. Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopods. *Ecotoxicol. Environ. Safety.*, **44** : 287-293.

**Ripusudan L.** 2011. Le Maïs en zones tropicales: amélioration et production Par Paliwal, Food and Agriculture Organization of the United Nation.

**Roel A. R., Dourado D. M., Matias R., Porto K. R., Bednaski A. V., Costa R.B.D.,** (2010). The effect of sub-lethal doses of *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil on the midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, **54**(3), 505-510.

**Rouibi A.** (2002). Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : Aspects morphométriques et Biochimiques. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister, Université de Badji Mokhtar Annaba. 95p.

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

## S

- Saci-Messiad R.** (2006). Effet d'un régulateur de croissance, l'azadrachine chez *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : physiologie, activité enzymatique et comparaison de la détoxification avec d'autres groupes de pesticides.
- Sahbi F., Aouni M.,** 2015. Impact des huiles essentielles de *Lavandula dentata* sur la biochimie, la morphométrie chez une espèce de moustique *Culex pipiens*. Mémoire de Master. Université de Tébessa. p : 28-32.
- Saleem M.A. & Shakoori A.R.,** 1987. Joint effects of dimilin and Ambush on enzyme activities of *Tribolium castaneum*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **29** : 127-137.
- Saleem M.A. & Shakoori A.R.,** 1987. Joint effects of dimilin and Ambush on enzyme activities of *Tribolium castaneum*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **29** : 127-137.
- Sayada N. & Messai S.,** 2015. Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide *Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens* : aspect morphométrique et biomarqueurs. Mémoire de Master. Université de Tébessa 37p.
- Schmutterer, H. & Singh, R.P.** 1995. List of insect pests susceptible to neem products. In: Schmutterer H. (Ed). The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss, And other Meliaceae Plants. VHC, Verlag, Weinheim Germany. 696.
- Schneider M.I., Smaghe G., Pineda S., Vinuela E.,** 2004. Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third-instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. *Biological Control*. **31** : 189-198.
- Scott J.G.,** 1999. Cytochrome P450 and insecticide resistance. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, **29**: 757-777.
- Scudeler E.L. & Santos D.C.D.** 2013. Effect of neem oil *Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Caraeochrysa clavreya* (Nvass; 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Micron*. **44** : 125-132
- Senthil-Nathan S., Chung P.G. & Murugan K.** 2004. Effect of botanicals and bacterial toxin on the gut enzyme of *Cnaphalocrocis medinalis*. *Phytoparasitica*. **32**(5):433-443.
- Senthil-Nathan S., Kalaivani K. & Murugan K.** 2006. Effect of biopesticides on the lactate dehydrogenase (LHD) of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guinée) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). *Ecotoxicol Environ Saf.* **65**(1): 102-107.

---

**SenthilNthan S., Kalaivani K., Murugan K. & Chung, P.G. 2005.** The toxicity and physiological effect of neem limonoids on *Cnaphlocrocis medinalis* (Guinée) the rice leaf folder. *Pestic Biochem Physiol.* 81(2): 113-122.

**Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New Hall. & Feidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, 19 : 415-528.

**Shiva P., Aref 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* : 198-202.

**Shukla A., Timblin C., BeruBe K., Gordon T., McKinney W., Driscoll K., Vacek P., Mossman B.T., 2000.** Inhaled particulate matter causes expression of nuclear factor (NF)-kappaB-related genes and oxidant-dependent NF-kappaB activation in vitro. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol* 23, 182-187.

**Siegfried B. D., Scharf M. E., 2001.** Mechanisms of organophosphate resistance in insects. *in: Biochemical sites of insecticide action and resistance*, pp. 269-291. *Springer Berlin Heidelberg*.

**Siegfried B.D. & Scharf M.E., 2001.** Mechanisms of organophosphate resistance in insect. Department of Entomology. *University of Nebraska Lincoln NE, USA*. p: 269-291.

**Sifi K., 2009.** Biosurveillance de la qualité des eaux au Golf d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnementale chez *Donax trunculus* (Mollusque : Bivalve). Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat. Université de Annaba. 229 p.

**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, le lactate déshydrogénase (LDH) chez *Blattella germanica* (*Dictyoptera : Blattellidae*). Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister Université de Annaba. 64 p.

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

**Sporleder M. & Lacey L.A. 2013.** Biopesticides. In: Giordanengo, P. Vincent, C. Alyokhin, A. (Eds). *Insectpests of potato: Global perspectives on biology and management*. Elsevier, Oxford, UK. 463-497

**Stark J.D., Vargas R.I. & Thalman R.K. 1990.** Azadirachtin: effects on metamorphosis, longevity and reproduction of threephritud fruit fly species. *J Econ Entomol.* 83(6): 2168-174.

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

**Storey K.B. (1996).** Oxidative stress : animal adaptations in nature. *Braz.J. Med. Biol. Res.* 29 : 1715-1733.

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

**Surendra Nath B., 2000.** Changes in Carbohydrate Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm, *Bombyx mori* L., Exposed to Organophosphorus Insecticides.1, 129-135.

## T

**Tang Y.Q., WEATHERSBEE III A.A & MAYER R.T., 2002.** Effet of neem seed extract on the brown citrus aphid (Homoptera :Aphididae) and its parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera : Aphidiidae) *Environ. Entomol.* **31** :172-176.

**Tapondjou A.L., Adler C., Fontem D.A., Bouda H., & Reichmuth C., 2005.** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Pest Science.*, **41** : 91-102.

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

**Tietz N.W., 1987.** Fundamental of clinical chemistry. *in*: Ribeiro S., Guilhermino L., Sousa J. p., Soares A.M.V.M, (Ed). Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate dehydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopos. *Ecotox. Envir. Safety*, **44**, 287-293.

**Timmins W.A. & Reynolds S.E. 1992.** Azadirachtin inhibit secretion of trypsin in midgut of *Manduca sexta* caterpillars : reduced growth due to impaired protein digestion. *Entomol. Exp. Appl.* **63** :47-54.

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

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

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

**Tome H.V.V. , Martins , J.c ., Correea A.S ., Galdino T.V.S., Picançon M.C ., Guedes R.N.C. 2013 .** Azadirackin avoidance by larvae and adulte femeles of the tomato leafmuer *Tuta absoluta*. *Grop Prot* . 46 : 63-69.

**Tomita T., Hidoh O & Kono Y., 2000.** Absence of protein polymorphism attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps*. *Insect. Biochem. Mole. Biol.*, **30** : 325-333.

**Tripathi AK, Prajapati V, Aggrawal KK, Khanuja SP. Kumar S.** Replency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored product beetles. *J Econ Entomol* 2000; 93(1): 43-7.

**Tripathi AK, Prajapati V, Aggrawal KK, Khanuja SPS, Kumar S.** Toxicity towards *Tribolium castaneum* in the fraction of essential oil of *Anethum sowa* seeds. *J Med Arom Plant Sci* 2000; 22: 40.

## V

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

**Valles S.M., Koehler P.G. & Brenner R.J. (1999).** Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzymes activities among pestiferous Blattodea. *Comp. Biochem. Physiol.*, **124**: 227-232.

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

**VAN DER VAART, H., POTMA, D.S., TIMES, W. & TEN HACKEN, N.H.** (2004). Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress. *Thorax*, 29, 713-721.

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

**Viarengo A., Lowe D., Bolognesi C., Fabbri E. & KoehlerA.** (2007). The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutantinduced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, **146 C**: 281- 300.

**VIARENGO A., LOWE D., BOLOGNESI C., FABBRI E. & KOEHLER A.** (2007). The use of b i omarkers in biomonitoring: an approach assessing the level of pollutant induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 146C, 281-300.

### W

**Wang H., Lai D., Yuan M. & Xu H.** 2014. Growth inhibition and differences in protein profiles in azadirachtin-treated *Drosophila melanogaster* larvae. *Electrophoresis*.**35**(8): 1122-1129.

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

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

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

### Y

**YAGI K., 1976.** Simple Fluorometric Assay for lipoperoxyde in blood plasma. *Biochemical. Medecine.* (15): 212-216.

**Yazdani Y, Keyhanvar N, Kalhor HR, Rezaei A.** Functional analyses of recombinant mouse hepcidin-1 in cell culture and animal model. *Biotechnol Lett.* 2013; 35(8): 1191-1197.

**Yong L., Shanshan Z., Wusheng J. & Donghua L.** (2012). Cadmium accumulation, activities of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content in *Pistia stratiotes* L. *Environmental Science and Pollution.*, **10**: 12-54.

**Yu S.J. & Abo-Elghar G.E.**, 2000. Allelochemicals as inhibitors of Gluthation-S-transferase in the fall armyworm. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **68** : 173-183.

## Z

**Zamani Z, Bahar M, Jacques MA, Lak MR, Akhavan A.** (2011) Genetic diversity of the common bacterial blight pathogen of bean, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, in Iran revealed by rep-PCR and PCR–RFLP analyses. *World J Microb Biot* 27:2371–2378.

**Zhu K.Y., Dowdy A.K. & Barker J.E.**, 1999. Detection of single-base substitution in an esterase gene and its linkage to malathion resistance parasitoid *Anisoptromalus calandrae* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Pest. Scie.*, **55** : 398-404.

**Zielinski S.& Pörtner H.O.** (2000). Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods : a function of metabolic rate or age. *Comp. Biochel. Physiol.*, 125 : 147-160.

## Webographie

[www.grainscanada.gc.ca/storage-entrepote](http://www.grainscanada.gc.ca/storage-entrepote)

Résumé

Résumé

## Résumé

Notre travail a pour but d'évaluer l'effet d'un biopesticide, l'Azadirachtine (1%) (Anti JH et anti ecdystéroïde) sur un coléoptère ravageur et qui cause des dégâts majeurs au niveau des céréales en Algérie.

Pour cela, plusieurs aspects ont été déterminés :

**Aspect toxicologique :** a permis de déterminer le pouvoir insecticide de l'Azadirachtine par ingestion et par fumigation contre les adultes de *R. dominica* à différentes périodes. Le produit révèle un effet toxique avec une relation dose-réponse.

**Pouvoir répulsif :** le test de répulsion réalisé par la méthode de MC Donald *et al.* (1970), a permis de mettre en évidence le pouvoir répulsif de l'AZAD à l'égard de *R. dominica*.

**Aspect biochimique :** a permis de déterminer les variations des réserves métaboliques (glucides, lipides et protéines) en fonction du traitement par ingestion avec les deux concentrations sous létales (CL10 et CL25). Le produit affecte relativement ces paramètres biochimiques au cours de la période testée (24, 48 et 72h).

**Biomarqueurs :** l'Azadirachtine provoque une induction du système de détoxification de *R. dominica* en augmentant l'activité spécifique de certains biomarqueurs du stress oxydatif, GSTs, MDA et LDH. Au cours de la période testée.

**Mots clés :** *Rhyzoperthadominica*, AZAD 1%, toxicité, répulsion, biochimie et biomarqueurs.

## Abstract

Our work aims to evaluate the effect of a biopesticide, Azadirachtin (1%) (anti JH and anti ecdysteroid) on a beetle pest and which causes major damage to cereals in Algeria.

To this end, several aspects have been determined:

**Toxicological aspect:** determined the insecticidal power of Azadirachtin by ingestion and by fumigation against adults of *R. dominica* at different periods. The product shows a toxic effect with a dose-response relationship.

**Repulsive power:** the repulsion test carried out by the method of MC Donald *et al.* (1970), revealed the repulsive power of AZAD with respect to *R. dominica*.

**Biochemical aspect:** allowed to determine the variations of the metabolic reserves (carbohydrates, lipids and proteins) according to the treatment by ingestion with the two concentrations underlethal (CL10 and CL25). The product relatively affects these biochemical parameters during the period tested (24, 48 and 72h).

**Biomarkers:** Azadirachtin causes an induction of the *R. dominica* detoxification system by increasing the specific activity of certain biomarkers of oxidative stress, GSTs, MDA and LDH. Over the period tested.

**Key words :** *Rhyzopertha dominica*, AZAD 1%, toxicity, biochemical and biomarkers aspect



## المخلص

يهدف عملنا لتقييم تأثير أحد المبيدات الحيوية، Azadirachtine (anti JH et anti ecdystéroide) ضد نوع من أنواع ثاقبات الحبوب الصغرى *Rhyzopertha dominica*، أهم متسبب في أضرار الحبوب في الجزائر. لهذا الغرض، تمت دراسة عدة جوانب:

**الجانب السمي:** الذي سمح بتحديد فعالية الـ Azadirachtine عن طريق الهضم والتنفس ضد الفئة البالغة لـ *R. dominica* خلال أوقات مختلفة. المنتج يكشف عن تأثير سام مع وجود علاقة بين الجرعة والاستجابة. دراسة التنافر: تم اختبار التنافر من خلال تطبيق طريقة MC Donald 1970 الذي أثبت وجود قوة طاردة للـ AZAD ضد *R. dominica*.

**الجانب البيوكيميائي:** الذي حدد وجود تغيرات في المخزون الأيضي (الكربوهيدرات، الدهون و البروتينات) من خلال المعالجة عبر الهضم بتركيزين شبه قاتلة (CL10 و CL25). المنتج أثر نسبيا على هذه المعايير البيوكيميائية خلال فترة الاختبار (24، 48 و 72 ساعة).

**المؤشرات الحيوية:** تسبب الـ Azadirachtine في تحريض نظام إزالة السموم لـ *R. dominica* حيث أدى إلى ارتفاع نشاط بعض المؤشرات الحيوية المختصة في عملية الأكسدة GSTs، MDA و LDH خلال فترات الاختبار. **الكلمات المفتاحية:** *Rhyzopertha dominica*، 1% AZAD، السمية، التنافر، البيوكيمياء، المؤشرات حيوية.