



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

Université Larbi Tébessi-Tébessa

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

Département de biologie Appliquée



كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES  
ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

## MEMOIRE DE MASTER

**Domaine:** Sciences de la nature et de la vie

**Filière:** Science Biologie

**Spécialité:** Toxicologie: Xénobiotiques et Risques Toxicologiques

**Thème**

# Contribution à l'étude toxicologique et biochimique d'*ocimum basilicum* chez un lépidoptère de denrées stockées

**Présenté par:**

Melle BAIZID Farida

**Devant le jury:**

HAMEL. M

M.A.A U.L.T. Tébessa Président

SACI. FZ

M.A.A U.L.T. Tébessa Rapporteur

BELLAL. W

M.A.A U.L.T. Tébessa Examineur

Date de soutenance: 29 Mai 2016

Année universitaire: **2015/2016**

## الموضوع

مساهمة في دراسة السمية والكيميائية الحيوية باستخدام الزيوت *Ocimum basilicum* عند  
حشفيات الأجنحة لتخزين المواد الغذائية.

## ملخص

أجريت تجارب لتقدير تأثير الزيوت الأساسية لنبات الريحان عن طريق التطبيق الموضعي في  
الذكور والإناث العذارى والكبار عن طريق الاستنشاق، (D'E.K (Lépidoptère, Pyralidae).  
هذه المعالجة سمحت لنا بتقدير الجرعات القاتلة LC50 وLC90 في الشرانق والكبار ونرى  
تأثير LD 50 على بعض القياسات البيوكيميائية، مثل البروتينات والكربوهيدرات والدهون في البالغين.  
وقد أظهرت الاختبارات حدوث اضطراب الأيض مقارنة بالمجموعة الضابطة.

## الكلمات المفتاحية:

الزيوت الأساسية، *Ocimum basilicum*، السمية، *Ephestia Kuehniella*.

**Theme**

Contribution to the toxicological and biochemical study of *Ocimum basilicum* in a lepidopteran stored food

---

**Abstract**

Our experiments were conducted to estimate the effect of the essential oils of *Ocimum basilicum* by topical application in male and female pupae and adults by inhalation of E.K (Lepidoptera, Pyralidae ).

This treatment allowed our assess the LC 50 and LC 90 in pupae and adults and see the effect of the LC 50 on some biochemical parameters , such as proteins, carbohydrates, lipids in adults.

Tests have shown a disturbance of metabolites compared to controls.

---

**Key words:** The essential oils, *Ocimum basilicum* , toxicology, mediterranean flour moth

### Thème

Contribution à l'étude toxicologique et biochimique d'*ocimum basilicum* chez un lépidoptère de denrées stockées

---

### Résumé

Nos expérimentations ont été menées dans le but d'estimer l'effet des huiles essentielles d'*ocimum basilicum* par application topique chez les chrysalides mâles et femelles et par inhalation chez les adultes d'E.K (lépidoptère, pyralidae).

Ce traitements nos a permis d'évaluer la CL 50 et la CL 90 chez les chrysalides et les adultes et de voir l'effet de la CL 50 sur quelques paramètres biochimiques, tel que protéines, glucides, lipides chez les adultes.

Les essais ont montrées une perturbation des métabolites comparativement aux témoins.

---

### Mots clés:

Les huiles essentielles, *Ocimum basilicum*, toxicologie, *Ephestia Kuehniella*.

## **Remerciement**

**Avant tous, nous remercions «Allah» pour tous ces dons.**

**Je tiens à remercier mon encadrante, «M<sup>me</sup> SACI FZ.»**

**Enseignante au département de biologie, qui fut pour moi un directeur de mémoire attentif et disponible, son soutien, sa compétence, son aide précieuse pour ma recherche Bibliographique, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris.**

**Ils ont été resteront des moteurs de mon travail de chercheur.**

**Un très grand merci à M<sup>me</sup> Hamel M ; pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.**

**Nous tannons également à remercions M<sup>me</sup> Bellal.W l'examineur de jury.**

**Enfin, nous tenons à remercier ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et à tous nos collègues de Master II Xénobiotique et risques toxicologiques, promotion 2016.**

## **Dédicace**

**Je dédie ce travail, à la souvenir de**

**Mon mère: Djamila.**

**A mon père: Mohamed.**

**A mes sœurs spécialement: Dalila, Basma, Amel,**

**Hanan, Salima, Hana, Faten.**

**A mon frère: Tarek**

**Sans oublier bien sur ma charmante petite sœur Radia.**

**A mon marie de sœur: Haider, Amer.**

**A mes amies: Hanane, Hadjira, Sabrina, Fatiha.**

**A mon amie: Djamel.**

*Farida.*



**Table des matières**

ملخص	
Abstract	
Résumé	
Remerciement	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des symboles	
<b>I. INTRODUCTION.....</b>	<b>1-2</b>
<b>II. MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>3</b>
II.1. Présentation de l'insecte .....	3
II.1.1. Position systématique.....	3
II.1.2. Cycle de développement.....	4
II.2. Technique d'élevage.....	5
II.3. Présentation de la plante.....	6
II.4. Extraction et rendements des huiles essentielles .....	7
II.5. Traitement par les huiles essentielles extraites de l' <i>O. basilicum</i> .....	8
II.5.1. Par application topiques.....	8
II.5.2. par inhalation.....	8
II.6. Extraction et dosage des constituants biochimiques .....	9
II.6.1. Dosage des protéines totales.....	11
II.6.2. Dosage des glucides totaux.....	11
II.6.3. Dosage des lipides totaux.....	12
II.7. Analyse statistique.....	12
<b>III. RESULTATS.....</b>	<b>13</b>
III.1. Rendement en huile essentielle d' <i>Ocimum basilicum</i> .....	13
III.2. Etude toxicologiques .....	13
III.2.1. Toxicologie d' <i>Ocimum basilicum</i> à l'égard des adultes d' <i>ephestia kuehniella</i> .....	13
III.2.2. Toxicologie d' <i>Ocimum basilicum</i> à l'égard des chryslides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> .....	14

## Table des matières

III.2.3. Toxicologie d' <i>Ocimum basilicum</i> à l'égard des chrysalides femelles d' <i>Ephestia kuehniella</i> .....	15
III.3. Effet d' <i>Ocimum basilicum</i> sur la composition biochimique d' <i>Ephestia kuehniella</i> .....	17
III.3.1. Effet sur le contenu en protéines totales.....	17
III.3.2. Effet sur Le contenu en glucides totales.....	18
III.3.3. Effet sur le contenu en lipides totales.....	19
<b>IV. Discussion</b> .....	<b>21</b>
IV.1. Rendement en huile essentielle de l' <i>O. basilicum</i> .....	21
IV.2. Toxicologie des huiles essentielles d' <i>O. basilicum</i> .....	21
IV.3. Effet des huiles essentielles de l' <i>Ocimum basilicum</i> sur la composition biochimique des adultes <i>Ephestia Kuehniella</i> .....	23
<b>V. Conclusion et Perspective</b> .....	<b>26</b>
<b>VI. Référence Bibliographique</b> .....	<b>27</b>
<b>Annexes</b>	

**Liste des tableaux**

<b>Tableau N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Dosage des protéines totales chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>11</b>
<b>02</b>	Dosage des glucides totaux chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>11</b>
<b>03</b>	Dosage des lipides totaux chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>12</b>
<b>04</b>	Effet des huiles essentielles extraites d' <i>Ocimum basilicum</i> sur le taux(%) de mortalité corrigées des adultes d' <i>éphestia kuehniella</i> après 24 h de traitement (m±sem, avec 4 répétition comportant chacune 10 individus)	<b>14</b>
<b>05</b>	Efficacité des huiles essentielles extraites d' <i>Ocimum basilicum</i> sur des adultes d' <i>éphestia kuehniella</i> après 24h de traitement	<b>14</b>
<b>06</b>	Effet des huiles essentielles extraites d' <i>ocimum basilicum</i> sur le taux (%) de mortalité corrigée des chrysalides males d' <i>éphestia kuehnilla</i> , (m±sem, n= 4 comportant chacune 10 individus)	<b>15</b>
<b>07</b>	Efficacité des huiles essentielles extraites d' <i>ocimum basiicum</i> sur des chrysalides males d' <i>Ephéstia kuehnilla</i> , analyse des probits.	<b>15</b>
<b>08</b>	Effet des huiles essentielles extraites d' <i>ocimum basilicum</i> sur le taux (%) de mortalité corrigée des chrysalides femelle d' <i>éphestia kuehnilla</i> (m±sem, n= 4 comportant chacune 10 individus)	<b>16</b>
<b>09</b>	Efficacité des huiles essentielles extraites d' <i>ocimumu basilicum</i> sur des chrysalides femelle d' <i>Ephéstia kuehnilla</i> , analyse des probits.	<b>16</b>
<b>10</b>	Effet des huiles essentielles de l' <i>Ocimum basilicum</i> (CL50), sur le contenu en protéines totales (µg/individu) chez les adules à différentes périodes (m ± SD; n= 3). comparaison des moyennes à différents temps Pour une même série (Lettre majuscule) et pour un même temps entre les différentes séries (Lettre minuscule).	<b>17</b>

## Liste des tableaux

---

<b>11</b>	Effet des huiles essentielles d' <i>Ocimum basilicum</i> (CL50), sur le contenu en glucides totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes à différentes périodes ( $m \pm SD$ ; $n= 3$ ). Comparaison des moyennes à différents temps Pour une même série (Lettre majuscule) et pour un même temps entre les différentes séries (Lettre minuscule).	<b>18</b>
<b>12</b>	Effet des huiles essentielles d' <i>Ocimum basilicum</i> (CL50), sur le contenu en lipides totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes à différentes périodes ( $m \pm SD$ ; $n= 3$ ). comparaison des moyennes à différents temps Pour une même série (Lettre majuscule) et pour un même temps entre les différentes séries (Lettre minuscule).	<b>20</b>

Liste des figures

<b>Figure N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i>	<b>3</b>
<b>02</b>	Larve d' <i>Ephestia kuehniella</i>	<b>4</b>
<b>03</b>	Cycle de développement d' <i>E. Kuehniella</i> . (in Yezli-Touiker, 2014)	<b>5</b>
<b>04</b>	Présentation de la plante <i>Ocimum basilicum</i>	<b>6</b>
<b>05</b>	Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.	<b>8</b>
<b>06</b>	Méthodes d'extraction (Shibko <i>et al.</i> , 1966) et dosage des principaux constituants biochimiques (glucides, lipides, protéines).	<b>10</b>
<b>07</b>	Effets des huiles essentielles (CL50) extraites d' <i>Ocimum basilicum</i> , sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/$ individu) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $m \pm SD$ , $n = 3$ )	<b>18</b>
<b>08</b>	Effets des huiles essentielles (CL50) extraites d' <i>Ocimum basilicum</i> , sur le contenu en glucides totales ( $\mu\text{g}/$ individu) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $m \pm SD$ , $n = 3$ )	<b>19</b>
<b>09</b>	Effets des huiles essentielles (CL50) extraites d' <i>Ocimum basilicum</i> , sur le contenu en lipides totales ( $\mu\text{g}/$ individu) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $m \pm SD$ , $n = 3$ )	<b>20</b>

### Liste des symboles

<b>%</b>	Pourcentage
<b>°C</b>	degré Celsius
<b>µg</b>	Microgramme
<b>BBC</b>	Bleu brillant de commassie
<b>BSA</b>	Albumine de sérum de bœuf
<b>Cm</b>	Centimètre
<i>E. Kuehniella</i>	<i>EphestiaKuehniella</i>
<b>CL50</b>	Concentration Létale de 50% de la population
<b>CL90</b>	Concentration Létale de 90% de la population
<b>Do</b>	Densité optique
<b>G</b>	Gramme
<b>H</b>	Heure
<b>HE</b>	Huile Essentielle/Huiles essentielles
<b>J</b>	Jour
<b>M</b>	Moyenne
<b>Mg</b>	Milligramme
<b>ml</b>	Millilitre
<b>Min</b>	Minute
<b>nm</b>	nanomètre
<i>O. basilicum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficient de détermination
<b>SD</b>	Ecart type
<b>Sem</b>	écart moyen
<b>Trs</b>	Tours

# Introduction

### Introduction

L'agriculture biologique constituée une source alimentaire pour tout les êtres vivants parmi lesquelles l'homme, principale éléments dans la chaîne alimentaire, l'espèce humaine doit maximiser sa production alimentaire afin d'assurer une alimentaire adéquate de la population mondiale, qui ont tous besoin de se nourrir et ainsi de stocker, des aliments dans de meilleurs condition.

A cause des échanges des denrées stockées sur les marchés internationaux elle doit réduire l'abondance des espèces qui sont en compétition alimentaire avec elle .parmi lesquelles on peut citer les animaux les insectes ravageurs (Delaveau, 1974). Les ennemis de stockage de la famille des lépidoptères regroupe les pyrales ou teigne telles que la pyrale de riz, les teignes du raisin sec .....etc.

Ces insectes causent des pertes importantes en Algérie et génèrent de coûts importants pour l'industrie agroalimentaire (Taddei, 1984).

L'avènement des insecticides chimiques : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes a suscité l'espoir éradiqué pour améliorer la qualité de la santé publique (Kumar et Hwang, 2006). L'essor de ces insecticides a commencé après la deuxième guerre mondiale avec la découverte des propriétés insecticides du DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane) par Paul Hermann Müller en 1939. De la famille des organochlorés, conduit à son utilisation mondiale après la guerre, ce qui induit à une diminution considérable des populations d'insectes et dans certains pays, l'éradication du paludisme (Thiery et *al.* 1996 ; OMS, 2004).

A cause de leur effet négatif sur l'environnement, l'utilisation des insecticides chimiques est devenue de plus en plus restrictive (WMO, 1965). L'utilisation intensive des insecticides de synthèse pour lutter contre les insectes conduit à la contamination de la biosphère. Selon Philogène (2005) tous les pesticides posent un problème de contamination à court ou à long terme, selon la nature de la molécule utilisée dans les traitements et selon la manière avec laquelle ils sont appliqués (Les insecticides synthétiques organiques sont plus dangereux à manipuler, laissent des résidus toxiques dans les produits alimentaires). Les études consacrées à la dispersion des pesticides dans l'environnement ont prouvé la présence de ces produits dans plusieurs points de la biosphère qui n'ont subit aucun traitement (Gregor et Gummer, 1989 ; Philogène, 2005 ; Mamadou, 2010). L'utilisation des insecticides chimiques conduit aussi à un désordre écotoxicologique qui est accompagné d'une augmentation spectaculaire du nombre d'espèces devenues résistantes aux insecticides chimiques ; l'utilisation massive

du DDT et autres organochlores aboutit à l'apparition des premiers cas d'insectes résistants, dès les années 1950. (Nakakita et Winks, 1981).

En effet, plusieurs autres méthodes de lutte intégrée se sont développées, entre autre, la lutte botanique est très recommandé, de ce fait certaines plantes constituent une source de substance naturelles qui présentent un grand potentiel d'application contre ces insectes et d'autres parasites du mode végétale et animal (Bonzi, 2007).

Ces produits biodégradables provenant de plantes constituent une bonne alternative qui permet aux producteurs de pouvoir assurer la protection de leur culture à un coût relativement faible.

La réduction de l'emploi des pesticides chimiques due à l'utilisation des extraits des plantes contribue à la réduction de la contamination de la biosphère et permet aussi d'améliorer la santé publique (Weaver et al, 2000 in Bonzi 2007).

Les Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) constituent une véritable banque de ces molécules chimiques (Fournier, 1948). Les plantes se défendent par divers moyens physiques et chimiques en synthétisant des métabolites secondaires extraordinairement diversifiés (Guenther, 1984). Les molécules du métabolisme secondaire des plantes appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les trapézoïdes, les stéroïdes (Garnier, 1961).

Notre travail s'intéresse à évaluer la toxicité d'un bio-insecticide issu de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique *Ocimum basilicum* sur un insecte ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehniella* (lépidoptéra, pyralidie)

# Matériel et Méthodes

### II. Matériel et méthodes

#### II. 1.Présentation de l'insecte

*Ephestia kuehniella* (Zeller), appelée communément «Pyrale de la farine» est une mite des denrées stockées dont les larves s'attaquent essentiellement à la farine, aux grains de céréales (Blé, Mais, Riz), la semoule, les pâtes alimentaires et aux fruits secs (raisins, figues, abricots). (Bataille et al. 1995 ; Cipollaet al. 1996).



**Figure 1.** Adulte d'*Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879)

##### II.1.1.position systématique:

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Embranchement</b>	Arthropoda
<b>Classe</b>	Insecta
<b>Sous classe</b>	Pterygota
<b>Super ordre</b>	Endopterygota
<b>Ordre</b>	Lepidoptera
<b>Famille</b>	Pyralidae
<b>Genre</b>	<i>Ephestia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ephestia kuehniella</i> (Zeller, 1879)

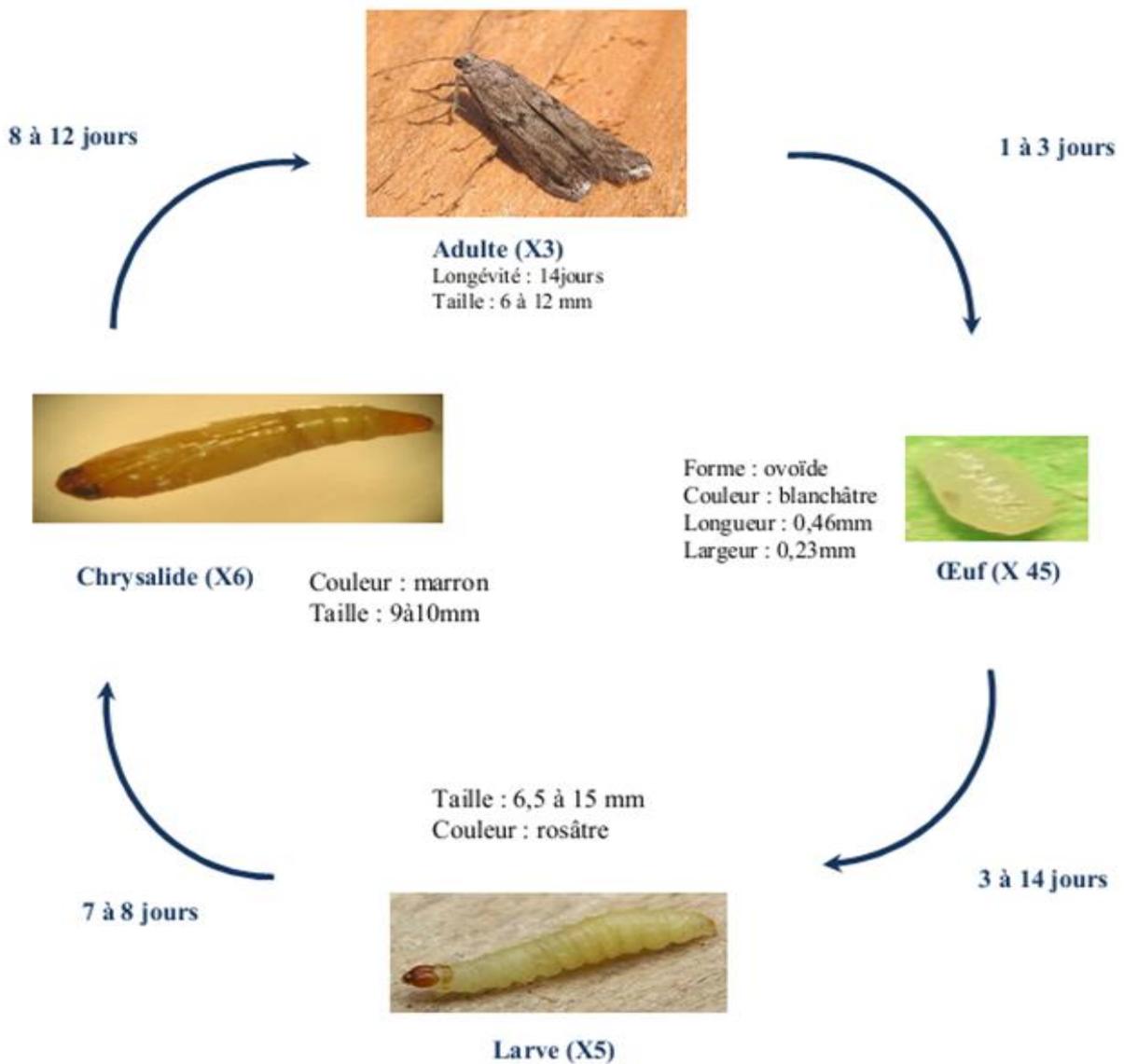


**Figure 2.** Larve d'*Ephestia kuehniella*.

### II.1.2. Cycle biologique

Le cycle de développement dure 75 jours à une température de 27°C et une humidité relative de 70 %. *Ephestia kuehniella* est un lépidoptère holométabole. De mœurs nocturnes, durant le jour, l'insecte se tient au repos contre les murs ou caché dans la farine (Balachowsky, 1972).

L'insecte adulte a une petite tête globulaire, il mesure de 20 à 25 mm d'envergure, les ailes antérieures sont grisâtres satinées, avec des points noirs, les ailes postérieures sont blanchâtres finement frangées (Akif, 2010). Les femelles adultes pondent juste après l'accouplement qui aura lieu quelques heures après l'émergence et la fécondité est de 200-300 œufs blancs et de forme elliptique (Aribi, 2011). La larve de couleur blanche virant légèrement au rose, mesure de 1 à 1,5 mm, après six mues, elle peut atteindre 15 à 20 mm, elle s'entoure d'un cocon blanc soyeux et devient une chrysalide qui donne des adultes après 8 à 12 jours (Figure 3).



**Figure 3.** Cycle de développement d'*E. kuehniella* (In Yezli-Touiker, 2014)

## II. 2 Techniques d'élevage

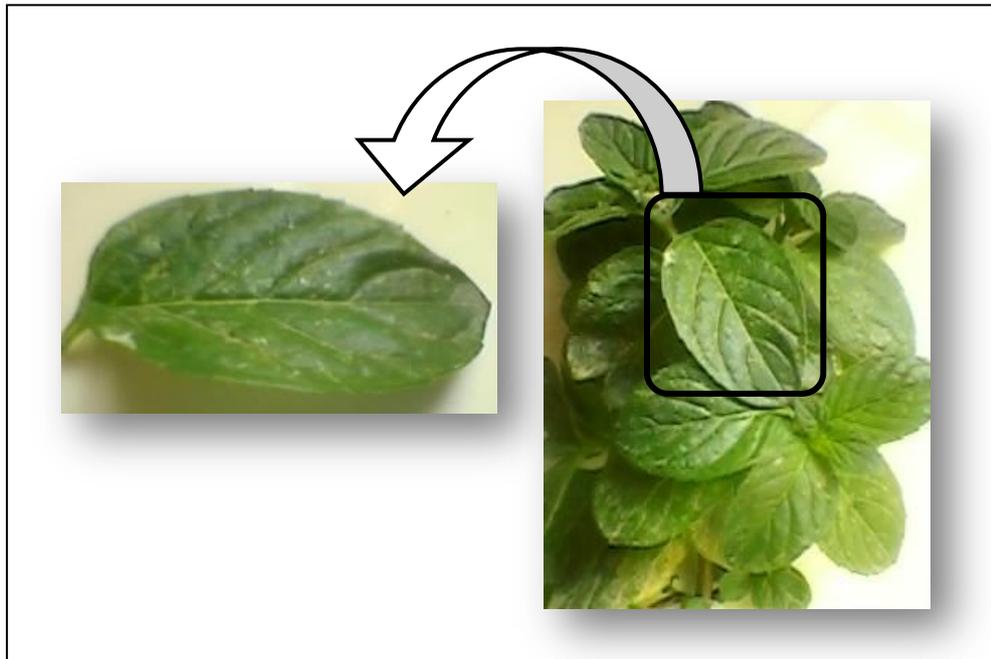
Les insectes proviennent des moulins d'Annaba. L'élevage est conduit au laboratoire sous des conditions optimales de développement, caractérisées par une température de 27°C, une humidité relative voisine à 70%.

La farine infestée est disposée dans des cristallisoirs en verre, recouvertes d'un morceau de tulle maintenu par un élastique, contenant de la farine. Un suivi journalier de l'élevage permet de séparer des larves mâles et femelles dans des boîtes contenant de la farine et du papier plissé permettant aux larves d'entamer leurs étapes de nymphe.

### II. 3 Présentation de la plante *ocimum basilicum*

Plante herbacée, annuelle de 20 à 60 cm de hauteur. Ses tiges sont simples ou ramifiées, quadrangulaires généralement ligneuses à leur base comme chez beaucoup de lamiacées portent des feuilles sont pétiolées, opposées, lancéolées et soyeuses. de couleur verte, plus ou moins foncée ou parfois rougeâtre. Leurs tailles varient selon les variétés de 2 à 3 cm jusqu'à 7 cm.

Les fleurs sont petites et regroupées en épis à l'extrémité des rameaux et à l'aisselle des feuilles. Elles sont de couleur blanche ; rose ou violacée selon la variété (Arabici et Bayram; 2004, Koudjéga, 2004). Les racines sont pivotantes (Figure4). Les graines de basilic ont une couleur noir et une forme ovale (Khaddar, 2009).



**Figure 4:** Présentation de la plante *ocimum basilicum*

### La Position systématique d'*ocimum basilicum* selon Crouquist (1981)

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Familles</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Ocimum</i> .
<b>Espèce</b>	<i>Ocimum Basilicum</i>

#### II-4 Extraction et rendement des huiles essentielles

La matière végétale destinée à l'hydrodistillation pour l'obtention des huiles essentielles a été prélevée entre janvier et avril 2016. La plante utilisée est originaire de la région de Tébessa. Fraîchement collectée. Elle a été séchée à l'ombre et dans un endroit sec.

L'extraction a été réalisée au niveau de notre laboratoire. Une biomasse de 50g de matériel végétale et 500 ml d'eau distillée ont été introduit dans le ballon à fond rond d'une hydrodistillation de type clevenger (figure5).

L'ensemble est ensuite porté à ébullition dans le ballon surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Khaddar ; 2009 ; politéo *et al.*, 2006).

A la fin de l'extraction qui durée 2 à 3h l'huile essentielle de l'*ocimum basilicum* récupérer et stockée à 4 c° à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétique fermé par des bouchons en caoutchouc et recouverts par du papier aluminium.

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

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

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

**R** : Rendement en huile en %.

**P<sub>B</sub>** : Poids de l'huile en g.

$P_A$  : Poids de la matière sèche de plante en g.

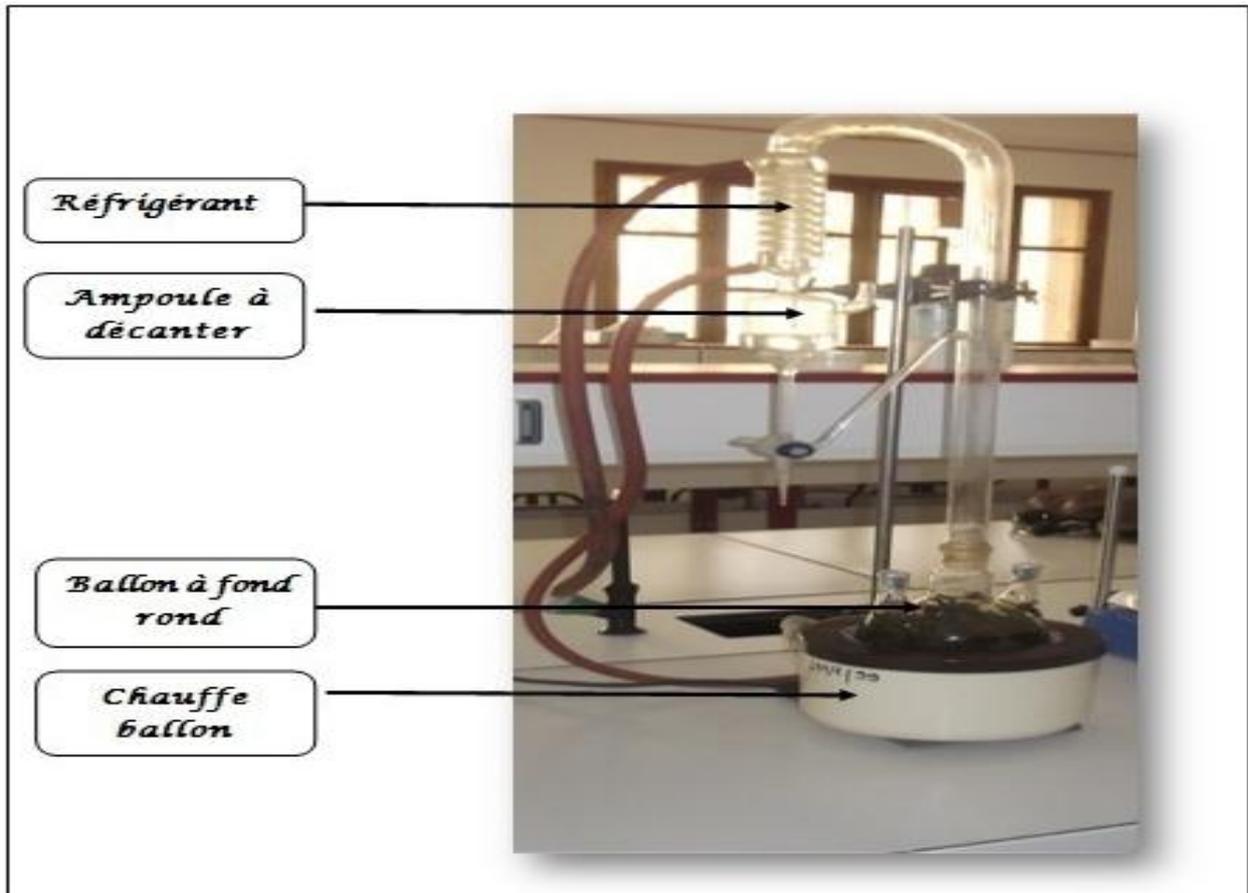


Figure 5: Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger.

### II-5 Traitement par les huiles essentielles extraites de *ocimum basilicum*

Deux modes d'application ont été effectués sur les chrysalides mâles et femelles et sur les adultes :

#### II-5-1 Par Application topique:

Les huiles essentielles ont été appliquées par voie topique sur la face ventrale des chrysalides mâles et femelles d'*Ephestia Kuehniella* avec une concentration de (0,5, 1,3,5ul/ml d'acétone traitement). L'observation de taux de mortalités a été faite après 12J.

#### II-5-2 Par inhalation:

Des papiers filtres de 4.5 cm de diamètre sont traités avec les mêmes concentrations d'huile essentielle (0,5.1.3.5 ul/ml d'acétone), chaque papier filtre bien séchée à l'air libre est placé dans des boîte de pétri de 4.5 cm de diamètre et 1 cm de hauteur, puis 10 individuées adultes de sexe confondus ont introduit dans chaque boîte. La mortalité des adultes est observée après 24 heures de traitement.

### II.6 Extraction et dosage biochimique:

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon (Shibko *et al.* 1966) et les principales étapes sont résumées dans la (figure6) les adultes d'*ephestia kuehneilla* sont placés dans des tubes eppendorf contenant chacun trois individus (disséquée leur aile et leur patte) et ce test est répété avec trois répétitions pour les trois temps (24h, 48h, 72h) et 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines, selon Bradford(1976).

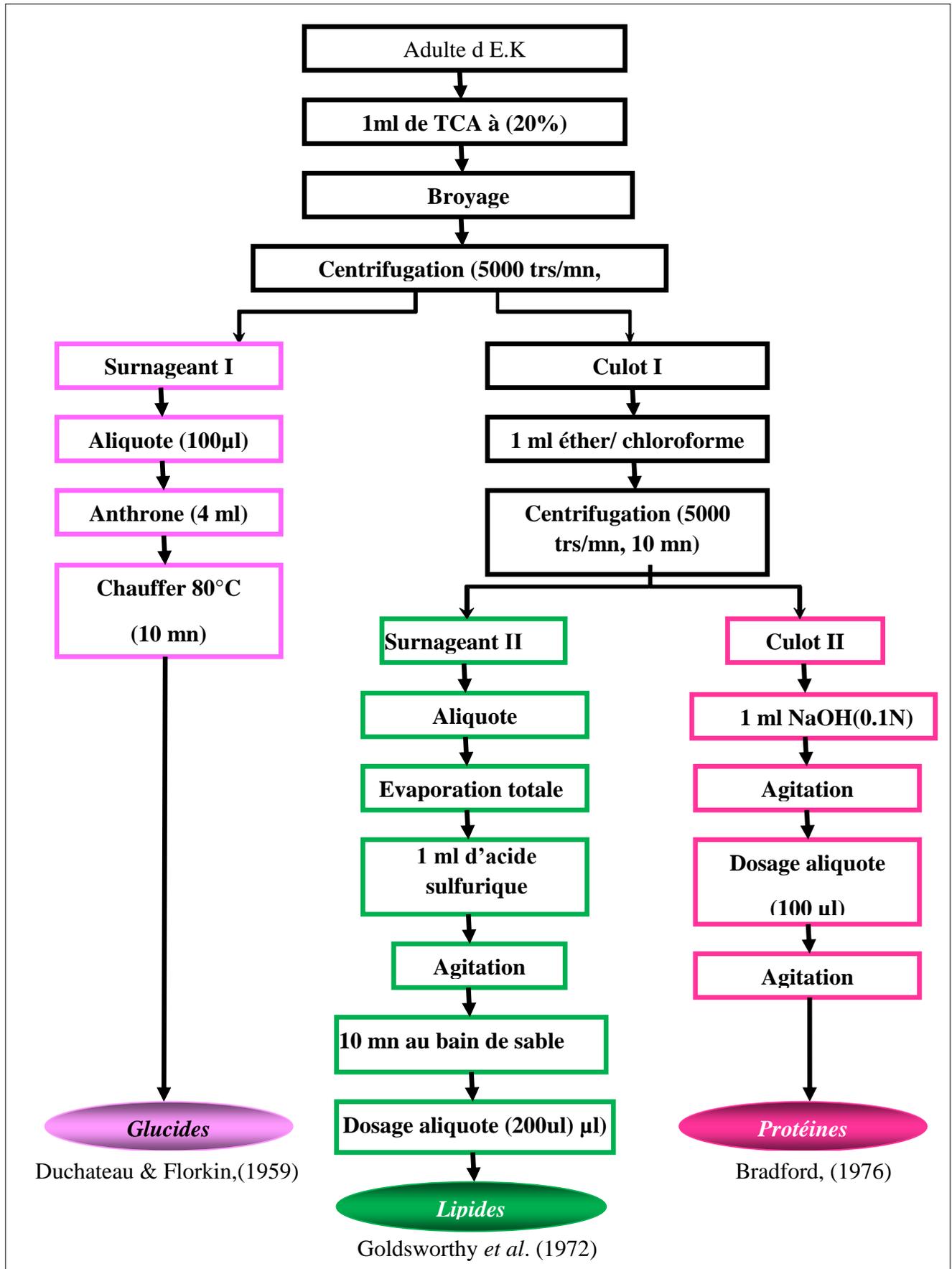


Figure :6. Méthodes d'extraction (Shibko *et al.* 1966)et dosage des principaux constituants biochimiques (glucides, lipides, protéines).

**II.6.1 Dosage de protéines totales**

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) 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 1).

**Tableau 1 :** Dosage des protéines totales chez les adultes d'*ephestia kuehneilla* : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine (µg)	0	20	40	60	80	100

**II.6.2. Dosage des glucides totaux :**

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau&Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 µl 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 glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Dosage des glucides totaux chez les adultes d'*ephestia kuehneilla*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

### II.6.3. Dosage des lipides totaux:

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100  $\mu$ l des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200  $\mu$ l de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide Sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée comme suit: on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau 3).

**Tableau3 :** Dosage des lipides totaux chez les adultes d'*ephestia kuehneilla*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

### II.7Analyse statistique

Les moyennes  $\pm$  SD sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Différents tests statistiques sont réalisés à l'aide du logiciel Minitab (Weisberg, 1985) 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.

# Résultats

### III. Résultats

#### III.1. Rendement en huile essentielle d'*Ocimum basilicum*

Les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* obtenu Par hydrodistillation sont de couleur Jaune claire avec une odeur agréable et un rendement de 0,36 % de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

#### III.2. Etude toxicologiques

Les essais toxicologiques ont permis d'évaluée l'efficacité des huiles essentielles, déterminer à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles.

Différentes concentrations sont appliquées sur des adultes et des chrysalides d'*Ephestia kuehniella*, pendant 24 heures et 12 jours respectivement. Ces dernières ont été retenues après un screening préalable. La mortalité observée est notée durant les 24 heures et les 12 jours qui suivent le traitement. Pour caractériser l'effet toxicologique des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* sur les adultes et les chrysalides d'*ephestia kuehniella*. Il est nécessaire d'évaluer la concentration létales (CL50 et CL90) pour cela les pourcentages des mortalités observés sont corrigées par la formule d'Abbott(1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaitre l'effet toxique réelle du bio insecticide par l'analyse des probits(1971).

##### III.2.1. Toxicologie d'*Ocimum basilicum* à l'égard des adultes d'*ephestia kuehniella* :

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* à l'égard d'un ravageur des denrées stockées évaluée à partir des mortalités enregistrées chez les individus cibles 24 heures après traitement.

Les tests de toxicité sont réalisés sur des adultes sexes confondus avec des différentes concentrations : 0,5, 1, 3 et 5 ppm pendant 24 h. Les concentrations létales, la CL50, et la CL 90 sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression qui exprime les probits du pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des doses des H.E (Tableau04). Le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,917$ ) révèle une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des doses testées. Les concentrations CL50 et CL90, déterminées sont respectivement de 1, 238 ppm (intervalle de confiance : 0.6691-63.096) et 6,501 ppm (intervalle de confiance : 0.1224-2.3812) avec un slope de 1, 325 (Tableau05).

**Tableau 4:** Effet des huiles essentielles extraites d’*Ocimum basilicum* sur le taux(%) de mortalité corrigées des adultes d’*éphestia kuehniella* après 24 h de traitement (m±sem, avec 4 répétition comportant chacune 10 individus).

Doses ppm \ Répétition	Témoins	0,5	1	3	5
R1	0	20,0	60,0	70,0	100,0
R2	0	20,0	40,0	60,0	100,0
R3	10	22,2	44,4	66,7	88,9
R4	10	11,1	44,4	55,6	100,0
m±sem	3,33±4,44	20,74±0,99	48,15±7,90	65,56±3,70	96,30±4,94

**Tableau 05 :** Efficacité des huiles essentielles extraites d’*Ocimum basilicum* sur des adultes d’*éphestia kuehniella* après 24h de traitement.

Traitement	Slope	R <sup>2</sup>	CL50 (µg/l) IC(95)%	CL90 (µg/L) IC(95)%
HE <i>O. basilicum</i>	1,325	0,917	1,238 (0.6691-63.096)	6,501 (0.1224-2.3812)

### III.2.2. Toxicologie d’*Ocimum basilicum* à l’égard des chrysalides mâles d’*Ephestia kuehniella* :

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l’efficacité des huiles essentielles d’*Ocimum basilicum* à l’égard d’un ravageur des denrées stockées évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles après 12 jours de traitement.

Les tests de toxicité sont appliqués sur des chrysalides mâles nouvellement émergés avec des différentes concentrations : 0,5, 1, 3 et 5 ppm pendant 12 jours. Les pourcentages des mortalités corrigées sont mentionnés dans le (tableau 6) avec des taux variant de 35% (0,5 ppm) à 80 % (5 ppm) avec une relation dose –réponse. (Tableau 6).

Les concentrations létales, la CL50 et la CL 90 sont déterminées à partir de l’équation de la droite de régression qui exprime le probit du pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des doses des H.E Le coefficient de détermination (R<sup>2</sup>=0,99) révèle une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des doses testées. Les concentrations CL50 et CL90, déterminées sont respectivement de 1,028 ppm (intervalle de confiance de: 0,78- 1,33) et 0,16 ppm (intervalle de confiance: 0,73 - 1,35): avec un slope de 0,06. (Tableau 7).

**Tableau 6 :** Effet des huiles essentielles extraites d'*ocimum basilicum* sur le taux (%) de mortalité corrigée des chrysalides males d'*éphestia kuehnilla*( $m \pm sem$ ,  $n= 4$ comportant chacune 10 individus).

doses ppm \ Répétition	Témoin	0,5	1	3	5
R1	0	40	40	80	70
R2	0	50	40	70	90
R3	0	20	60	70	90
R4	0	30	50	80	70
$m \pm sem$	0,00 $\pm$ 0,00	35 $\pm$ 10	47,5 $\pm$ 7,5	75 $\pm$ 5	80 $\pm$ 10

**Tableau 7 :** Efficacité des huiles essentielles extraites d'*ocimum basilicum* sur des chrysalides males d'*Ephéstia kuehnilla*, analyse des probits.

Traitement	Slope	R <sup>2</sup>	CL 50 $\mu$ g/l IC (95%)	CL90 $\mu$ g/l IC (95%)
HE D' <i>O.basilicum</i>	0,06	0,99	1,028 (0,78 - 1,33)	0,16 (0,73 - 1,35)

### III.2.3. Toxicologie d'*Ocimum basilicum* à l'égard des chrysalides femelles d'*Ephestia kuehniella*

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* à l'égard d'un ravageur des denrées stockées évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles après 12 jours de traitement.

Les tests de toxicité sont appliqués sur des chrysalides femelles nouvellement émergées avec des différentes concentrations : 0,5, 1, 3 et 5 ppm pendant 12 jours. Les pourcentages mortalités corrigées sont mentionnées dans le (tableau08) avec des taux variant de 25,55% (0,5ppm) à 89,72 % (5 ppm) avec une relation dose –réponse.

Les concentrations létales sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression qui exprime le probit du pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des doses des H.E (Tableau08). Le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,98$ ) révèle une liaison positive forte entre les probits et le logarithme des doses testées.

Les concentrations CL50 et CL90, déterminées sont respectivement de 1,074 ppm (intervalle de confiance : 0.72- 1.59) et 6,19(intervalle de confiance : 2.41- 15.84)avec un slope de 1,41 (Tableau 9).

**Tableau 8:** Effet des huiles essentielles extraites d'*ocimum basilicum* sur le taux (%) de mortalité corrigée des chrysalides femelle d'*éphestia kuehnilla* ( $m \pm \text{sem}$ , n= 4 comportant chacune 10 individus)

Dose ppm \ Répétitions	Témoin	0,5	1	3	5
<b>R1</b>	0	20	40	70	100
<b>R2</b>	0	40	60	70	90
<b>R3</b>	10	22,22	44,44	77,77	88,88
<b>R4</b>	0	20	60	80	80
<b>m±sem</b>	<b>2,5±3,75</b>	<b>25,55±7,22</b>	<b>51,11±8,88</b>	<b>74,44±4,44</b>	<b>89,72±5,27</b>

**Tableau 9 :** Efficacité des huiles essentielles extraites d'*ocimum basilicum* sur des chrysalides femelle d'*éphestia kuehnilla*, analyse des probits.

Traitement	Slope	R <sup>2</sup>	CL 50 µg/l IC (95%)	CL 90µg/l IC (95%)
<b>HE D'<i>O.basilicum</i></b>	1,41	0,98	1,074 (0.72- 1.59)	6,19 (2.41- 15.84)

### III.3. Effet d'*Ocimum basilicum* sur la composition biochimique d'*Ephestia kuehniella*

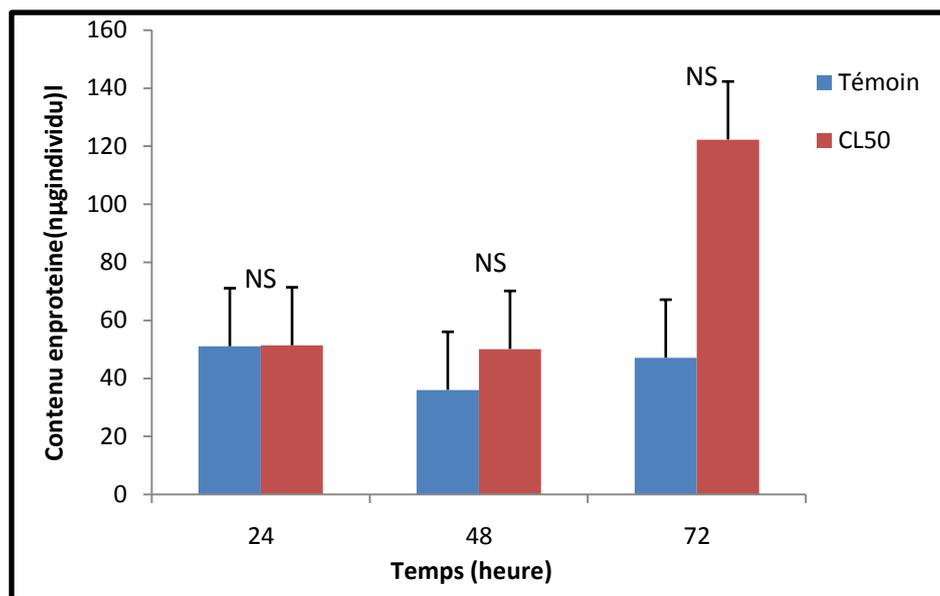
L'huile essentielle de a été appliquée sur les adultes du sexe non séparé d'*Ephestia kuehniella*. L'effet de cet insecticide a été évalué sur le contenu en protéines, glucides et lipides.

#### III.3.1. Effet sur le contenu en protéines totales :

Le contenu en protéines a été déterminé chez les adultes et les résultats du dosage sont mentionnés dans le (tableau 10 et la figure07). L'étude comparative entre témoins et traitées à la CL50 révèlent une supériorité des valeurs du contenu en protéines totaux chez traitées à la CL50 a 24h ; 48 h et 72 h (P24=0.992 ; P48=0.405 ; P72=0.288).par apport aux témoins de même les résultats entre les séries témoins et traitées montrent une fluctuation des valeurs (P=0.366).

**Tableau 10 :** Effet des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* (CL50), sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes à différentes périodes ( $m \pm SD$  ; n= 3). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (Lettre majuscule) et pour un même temps entre les différentes séries (Lettre minuscule).

Temps [ ] en protéines	24h	48h	72h
<b>Témoin</b>	51,04±20,89 a A	36,01±8,27 a A	47,09±17,48 a A
<b>CL50</b>	51,36±29,74 a A	50,11±18,28 a A	122,29±69,86 a A



**Figure07.** Effets des huiles essentielles (CL50) extraites d’*Ocimum basilicum*, sur le contenu en protéines totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes d’*Ephestia kuehniella* ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ ).

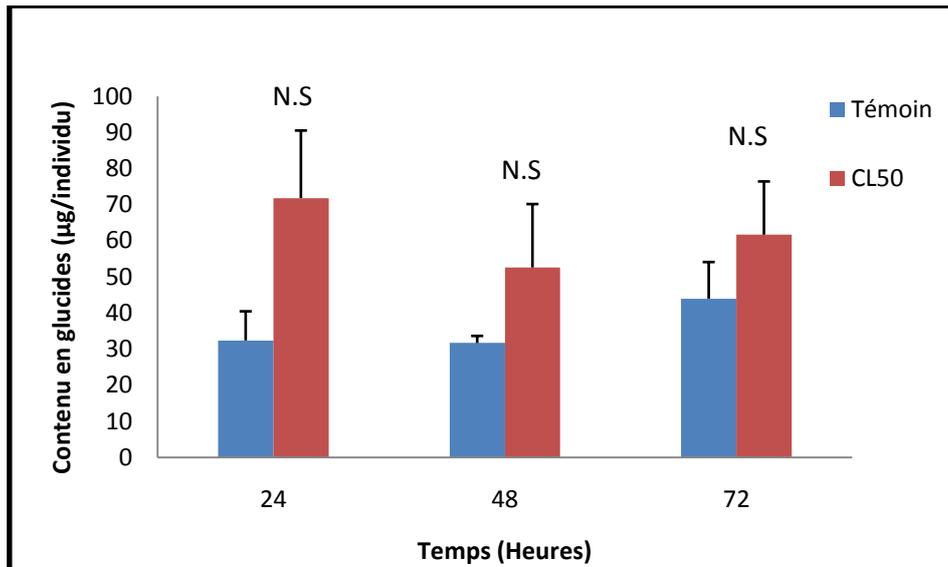
### III.3.2. Effet sur Le contenu en glucides totales

Le contenu en glucides a été déterminé chez les adultes et les résultats du dosage sont mentionnés dans le tableau 11 et la figure08. L’étude comparative entre les témoins et les traitées à la CL50 montre une augmentation des valeurs du contenu en glucides totaux chez traitées à la CL50 a24h 48 h et 72 h. par apport aux témoins ( $P_{24}=0.066$ ,  $P_{48}=0.219$   $P_{72}=0.275$ ).de même Le traitement entraine une variation non significative pour la série traitée ( $P=0.615$ )

**Tableau 11 :** Effet des huiles essentielles d’*Ocimum basilicum* (CL50), sur le contenu en glucides totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes à différentes périodes ( $m \pm \text{SD}$  ;  $n = 3$ ).

Comparaison des moyennes à différents temps Pour une même série (Lettre majuscule) et pour un même temps entre les différentes séries (Lettre minuscule).

Temps [ ] en glucides	24h	48h	72h
<b>Témoin</b>	32,39±8,07 a A	31,70±1,95 a A	43,98±10,13 a A
<b>CL50</b>	71,82±18,64 a A	52,60±17,56 a A	61,68±14,73 a A



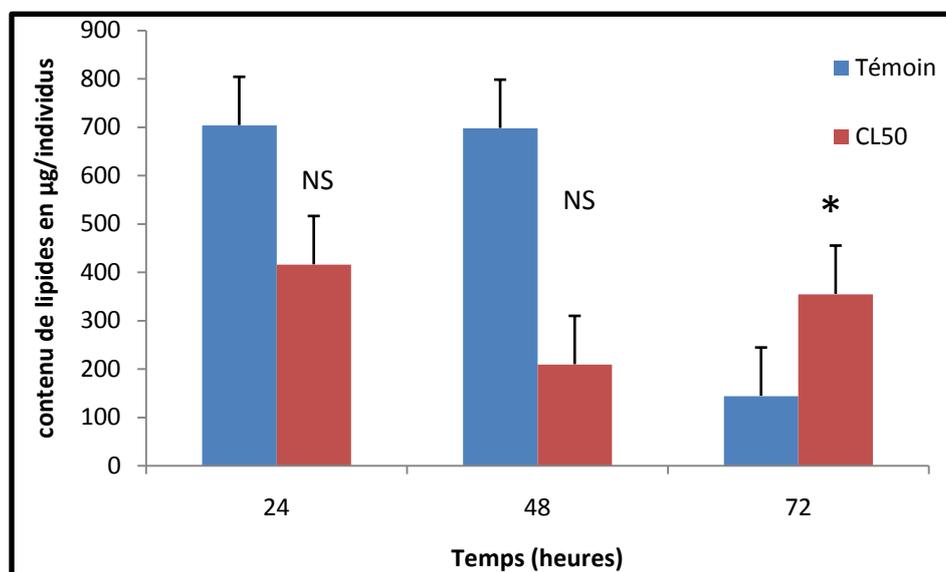
**Figure 8 :** Effets des huiles essentielles (CL50) extraites d'*Ocimum basilicum*, sur le contenu en glucides totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n= 3$ ).

### III.3.3. Effet sur le contenu en lipides totales :

Le contenu en lipides a été déterminé chez les adultes et les résultats du dosage sont mentionnés dans le tableau 12 et la figure 9. L'étude comparative entre les témoins et traités à la CL50 révèle une diminution du contenu en lipides totales chez traités à la CL50a 24h et a 48h par rapport au témoin ( $P_{24}=0.053$ ,  $P_{48}=0.084$ ) et une augmentation significative à 72 h ( $p=0,024$ ) par contre le traitement avec la DL50 provoque des variations non significatives dans les séries traitées ( $P=0.330$ ).

**Tableau 12 :** Effet des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* (CL50), sur le contenu en lipides totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes à différentes périodes ( $m \pm \text{SD}$  ;  $n=3$ ). comparaison des moyennes à différents temps contenu en lipides entre les séries témoins et traitées pour une même série (Lettre majuscule) et pour un même temps entre les différentes séries (Lettre minuscule).

Temps [ ] en lipides	24h	48h	72h
<b>Témoin</b>	703,70 $\pm$ 36,11 a A	697,87 $\pm$ 239,87 a A	143,79 $\pm$ 26,60 a A
<b>CL50</b>	415,80 $\pm$ 135,82 a A	209,16 $\pm$ 137,28 a A	354,62 $\pm$ 71,29 b A



**Figure 9:** Effets des huiles essentielles (CL50) extraites d'*Ocimum basilicum*, sur le contenu en lipides totales ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$ ).

# Discussion

### IV. DISCUSSIO

#### IV.1. Rendement en huiles essentielles

La méthode d'obtention des huiles essentielles reste une étape très importante qui peut agir directement sur la qualité et la quantité des huiles essentielles. Le succès de cette étape est interprété par le calcul des rendements (Bruneton, 1987). Les huiles essentielles de l'*Ocimum basilicum* ont des propriétés biologiques très intéressantes (antimicrobiennes, fongicides et insecticides) (Koba *et al.*, 2009). D'après Teuscher *et al.* (2005), le rendement en huile essentielle d'*O. basilicum* est de 0,02 à 0,5% dans les feuilles fraîches et 0,2 à 2,7% dans les feuilles séchées.

En général, le rendement en huile essentielle d'*Ocimum* varie de 0,1 à 1,71 % (Özcan & Chalchat, 2002). Ce rendement varie d'une plante à une autre, Il est de 0,5% chez *Artemisia mesatlantica*, de 0,1 à 0,35 % chez la rose, de 0,5 à 1 % chez la menthe poivrée et le néroli, de 1 à 3 % chez l'anise, de 0,8 à 2,8 %) chez la lavande, de 1 à 2,5 % chez le romarin et de 2 à 2,75 % chez le thym (Edward *et al.* 1987). Cette variabilité en huile essentielle entre ces plantes, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement, peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèques, spécifiques au bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (*in* Bouguerra, 2012). De plus, ces variations ont été notées entre les espèces du même genre *Ocimum*, car on enregistre un rendement de 1,71% chez *Ocimum minimum* (Özcan & Chalchat, 2002) et de 1,46% chez *Ocimum gratissimum* (Camara, 2009). et *Ocimum canim* (Akantetou *et al.*, 2001). Le rendement est de 0,36 % obtenu chez *O. basilicum* dans cette étude, ne diffère pas de celui trouvé chez la même espèce dans le monde. En effet, au Nigéria, ce rendement affiche une valeur de 0,5% (Kasali *et al.* 2005), en Guinée, 1,8% (Kéïta *et al.* 1999), au Bangladesh, le rendement d'extraction des l'huiles essentielles d'*O. Basilicum var purpurascens* est de 0,38% (Mondello, 2002), au Togo, est compris entre 1,4 et 2,2% (Koba *et al.* 2009) et au Bénin, entre 0,13 et 0,76% (Moudachirou *et al.* 1999). Cette différence du rendement en huile essentielle d'*Ocimum* dans les différentes régions est toute à fait normale, puisqu'il dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la géographie, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction, la température et la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante (Tchoumboungang *et al.*, 2005 ; 2006).

#### IV.2. Toxicologie des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum*

À cause de leur effet négatif sur l'environnement, l'utilisation des insecticides chimiques est devenue de plus en plus restrictive. L'utilisation des insecticides chimiques conduit aussi à un désordre écooxicologique accompagné d'une augmentation spectaculaire

du nombre d'espèces résistantes. L'application des produits naturels reste la méthode qui présente beaucoup d'avantages pour la santé de l'être vivant et pour son environnement par rapport aux produits de synthèse chimique qui contaminent globalement la biosphère (Benayad, 2008).

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 sont pour intérêt de caractériser le pouvoir insecticide d'une matière active à l'égard d'un insecte donné, ils sont nécessaires d'évaluer les concentrations létales (CL50 et CL90).

Les HE est un terme générique qui désigne les composants liquide et hautement volatiles des plantes, très rarement colorées, ce sont des composants d'odeur et de saveur généralement forte, elles sont peu/pas miscibles à l'eau. En revanche, elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques (acétone, chloroforme, sulfure de carbone...); ces composants sont obtenues à partir de la plantes soit par entrainement à la vapeur d'eau « hydrodistillation » ou par expression. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu; Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques. Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (Bouchikhi, 2011; Hellal, 2011; Véronique, 2011).

Dans notre travail, la toxicité est évaluée à partir du taux de mortalité enregistrés après traitement et qui dépend des concentrations des huiles essentielles administrées par deux voies (application topique et par inhalation) à l'égard des *adultes et des.chrysalides*, dont les résultats montrent une activité toxique du CL50 et du CL90.

En effet nous avons estimé la CL50 et la CL 90 d'huiles essentielles d'ocimum basilicum (CL50=1.238, CL90=6.501ug l) chez les adultes; (CL50=1.028, CL90=0.16) chez les chrysalides males et (CL50=1.074, CL90=6.19) chez les chrysalides femelle.

Les effets insecticides du basilic (famille des Labiatae) sont connus depuis longtemps, l'odeur du basilic est en effet réputée pour son effet répulsif (Bekele & Hassanali, 2001). Leurs résultats ont initié de nombreuses recherches sur l'utilisation potentielle de produits dérivés du basilic dans la lutte contre les insectes ravageurs de cultures dans de nombreux pays en développement (Senthil, 2007).

Les effets insecticides du basilic (famille des *Lamiaceae*) aussi connus depuis longtemps (Keïta *et al.* 2001). Les travaux de Regnault-Roger et Hamraoui en 1995 ont rapporté que l'huile essentielle d'*O.basilicum* présente une toxicité létale pour le coléoptère *Acanthoscelideso btectus*, la bruched'haricot. Dix ans plus tard Prajapati et Tripathi ont étudié l'effet insecticide, larvicide et ovicide de l'huile essentielle de *O. basilicum* sur *Anopheles stephensi*, *Aedes aegyptiet* *Culex quinquefasciatus* (**Diptera: Culicidae**).

Plus récent en 2012 Ntonga *et al* ont été évalués les effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'*O. canum Sims* et d'*O.basilicum* sur les adultes d'*Anopheles funestus*, vecteur du paludisme au Cameroun. En suite en 2013, Govindarajan *et al.* ont été démontré que les huiles essentielles de l'*O. Basilicum* (L.) ayant une activité larvicide sur les larves de troisième stade de *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* et *Anopheles subpictus*.

Pareillement des autres travaux ont été étudiées l'activité insecticide des huiles essentielles des espèces de genre (*Ocimum*). En 2001 Bekele et Hassanali, ont également étudié l'effet du camphre, constituant majeur d'une variété de basilic (*Ocimum kilimandsharicum*) sur plusieurs espèces de coléoptères. Leurs résultats ont initié de nombreuses recherches sur l'utilisation potentielle de produits dérivés du basilic dans la lutte contre les insectes ravageurs de cultures dans de nombreux pays en développement.

Les mêmes observations ont été faites après application des composés allélochimiques des *Allium* avec des doses variant de 0,02 mg/l à 1,23 mg/l sur cinq espèces d'insectes : *Callosobruchus maculatus*, *Sitophilus oryzae*, *S. granarius* appartenant à l'ordre des coléoptères, et *Ephestia kuehniella* et *Plodia interpunctella* appartenant à l'ordre des lépidoptères (Auger *et al*, 2002). Des études similaires réalisées par Traboulsi *et al.* (2002) ont démontré l'activité insecticide de quatre plantes médicinales récoltées au Liban (*Myrtus communis* L., *Lavandula stoechas* L., *Origanum syriacum* L. et *Mentha microphylla* K) sur les larves de *Culex pipiens molestus* Forskal. Les CL50 obtenues étaient comprises entre 16 à 89 mg/l. Par ailleurs, les huiles d'origan (*Origanum vulgare*), de menthe (*Mentha microphylla* et *M. viridis*) et d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) ont été les plus toxiques (Papachristos & Stamopoulos, 2002).

### **IV.3. Effet des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* sur la composition biochimique des adultes *Ephestia Kuehniella***

Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses, au cours du développement (larve, pupa 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).

Le dosage des principaux constituants réalisé dans le corps entier des *adultes* témoins et traités chez *Ephestia kuehniella*, révèle une augmentation des composants biochimiques ; protéines, glucides et diminution de contenus en lipides après traitement par la DL50 de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum*.

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). Les taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le volume, 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).

Nos résultats montrent que l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* appliquée à la CL50 chez Les *adultes Ephestia kuehniella*, cause une augmentation du contenu en glucides.

L'application d'un analogue de l'hormone de mue, le RH-0345, diminue les concentrations des glucides hémolympatiques chez *B. germanica* et un effet dose-réponse est également observé (Rouibi, 2002). D'autres régulateurs de croissance, comme le DFB, appliqué aux nymphes de *T. molitor* (Soltani, 1990), ou aux femelles adultes de *T. molitor* (Soltani-Mazouni & Soltani, 1992) ou encore chez un crustacé *P. kerathurus* (Morsli, 1994), affecte les concentrations des glucides hémolympatiques. Des effets similaires sont observés chez deux espèces de moustiques, *Cx pipiens* et *Cs longiareolata* traitées par le méthoxyphénazole et l'halophénazole (Tine-Djebbar, 2009).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenackers *et al.* 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leurs synthèses et stockage (Keely, 1985 ; Van Hensden & Law, 1989) vers les organes utilisateurs *via* l'hémolymphe surtout lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1986). Plusieurs études ont démontrées que les triglycérides, dont le corps gras est le site majeur de stockage chez les insectes, sont une réserve métabolique importante. (Tine-Djebbar, 2009).

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* appliquée à la CL50 cause une diminution du contenu en lipides. Les besoins énergétiques pour le

métabolisme de base sont fournis par l'oxydation des lipides. Des résultats différence a sont observés chez *B. germanica* après traitement à l'azadirachtine (Messiad, 2006) et à l'halofénozide, un analogue de l'hormone de mue (Rouibi, 2002). Le benfuracarbe, un carbamate, l'acétamipride, un néonicotinoïde (Maizaet al. 2004) et l'acide borique, un insecticide inorganique (Kilani-Morakchiet al. 2009b) réduisent également le contenu en lipides ovariens chez la même espèce. Les travaux de Daas (2006) ont également démontré que l'application de plusieurs mimétiques de l'hormone de mue tels que le RH-2485, le RH-5992 et le RH-0345 sur les femelles de *Eupolybothrus nudicornis* (myriapode) réduisent les concentrations de lipides dans l'hémolymph et dans les tissus ovariens. Un analogue de l'HJ, le méthoprène, testé chez *Locusta migratoria*, provoque aussi une diminution des concentrations des lipides au niveau.

Les protéines et les acides aminés jouent un rôle principal durant les différentes phases de la vie des insectes car ils sont caractérisés par des niveaux très élevés. Les protéines stockées aux stades larvaires et qui proviennent de la digestion des couches procuticulaires profondes de l'ancienne cuticule sont utilisées pour la formation des œufs (Briegel, 1985).

Les résultats obtenus, montrent que l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* appliquée à la CL50 chez *Ephestia kuehniella*, cause une augmentation du contenu en protéines. Madaci et al. (2008) indiquent que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynacées) provoquent une augmentation des taux des protéines chez les larves des vers blancs *rhizotrogini*. De plus, une augmentation du taux de protéines a été signalée chez *D. trunculus* exposé aux polluants environnementaux (Sifi, 2006), 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).

L'effet de Mating sur *Drosophila mélanogaster* induit des variations du taux de protéines (Kapelnikov et al. 2008). Une baisse de la protéinémie est observée également chez *Leptinotarsa decemlineata* après application de la 20E, du RH-5849 et du RH-5992 (Smagheet al. 1999) ou encore chez *Spodoptera littoralis* après traitement avec le RH-5849 (Smaghe&Deggheele, 1992b). Chez *T. molitor*, l'application du KK-42 *in vivo* réduit les concentrations des protéines hemolymphatiques. (Soltani-Mazouniet al. 2001)

# **Conclusion et perspectives**

### Conclusion et perspectives

La présente étude vise à étudier les effets toxiques des huiles essentielles *d'ocimum basilicum* et l'effet sur les variations des métabolites chez un ravageur des denrées stockées *Ephesia kuenhiella*.

Les huiles essentielles ont été appliquées par voie topique chez les chrysalides mâles et femelles et par inhalation chez les adultes (sexes non séparés).

Les tests de toxicité étudiés ont permis d'estimer la DL 50 et DL 90 chez les chrysalides et les adultes avec une relation dose-réponse.

La DL 50 des huiles essentielles a été évaluée sur les adultes par inhalation afin d'évaluer l'effet sur les paramètres biochimiques des individus adultes.

Les résultats montrent une perturbation des constituants biochimiques chez les séries traitées par rapport aux témoins.

En perspective, il serait important d'évaluer l'impact de ces huiles essentielles sur quelques paramètres de reproduction, sur le développement et sur les paramètres de détoxification tels que GSH, GST, MDA.

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques

#### -A-

1. **Abbott, W. B. (1925).** A method for competing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18 : 265-267.
2. **Akantetou, P-K. KOBA, K. Nenonene, A-Y. Poutoulip, P-W. Raynaud, CH. Sanda, K. (2011).** Evaluation du potentiel insecticide de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims sur *Aphis gossypii* Glover (Homoptera : Aphididae) au Togo. In; *International journal of biological and chemical sciences*. 5(4): 1491-1500.
3. **Akif M., Masuyer G., Schwager L., Bhuyan BJ., Muges G., Isaac, R E Sturrock E D., & Acharya, K R., (2011).** "Structural characterization of angiotensin converting enzyme in complex with a selenium analogue of captopril". *FEBS J.*, 278 : 3644-3645.
4. **Arabici O. and Bayram E., (2004).** The affect of nitrogène and différent plant densité on some agronomic and technologic characteristic of *ocimum basilicum* L.(Basil) Asian network for scientific information.3(4) : 255-262.
5. **Aribi, N., Lakbar, C., Smaghe, G. & Soltani, N., (2001).** Comparative action of RH-0345 and pyriproxyfen on molting hormone production and protein analysis in mealworm pupae. *Med. Fac Landbouww. Univ. Gent.*, 66 (2a): 445-454.

#### -B-

6. **Balachowsky., (1972).** Blood sucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals. *Mix. Publ. Ent. Soc. Am.*, 8: 161-376.
7. **Bataille, A., Anton, M., Mollat, F., Bobe, M., Bonneau, C., Caramaniam, M. N., Geraut, G. & Dupas, D., (1985).** Respiratory allergies among symptomatic bakers and pastrycooks : initial results of a prevalence study. (French). *Allergie et immunologie*. 27(1) : 7-10.
8. **Beenakers, A. M. T. H., Vander Host, D. G. & Van Marrewijk, W. J. A. (1985).** Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological process. *Prog. Lipid. Res.*, 24 : 19-67.

9. **Bekele, J. & Hassanali, A. (2001)**. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, **57**: 385 - 391

10. **Benayad, N. (2008)**. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63 p.

11. **Bonzi S., (2007)**. Efficacité des extraits de quatre plantes dans la lutte contre les champignons transmis par les semences de sorgho (*sorghum bicolor*(L) moench). Cas particulier *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson et *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema, Dorenbosch et van Kesteren. Mémoire DEA, phytopathologie, Burkina Faso, 39 p.

12. **Bouchikhi Tani Z. (2011)**. Lutte contre le bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. THÈSE En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en biologie, option : écologie animale, Université ABOUBAKR BELKAÏD – TLEMCEM (Algerie). P: 128.

13. **Bouguerra, A. (2012)**. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des Graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur Alimentaire. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 120 p.

14. **Bradford, M.M., (1976)**. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principe of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**: 248-254.

15. **Bruneton J. (1993)** .Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France.

-C-

16. **Camara, A. (2009)**. Thèse du doctorat en sciences de l'environnement. Université du Québec À Montréal. Lutte contre *Sitophilus Oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) et

*Tribolium castaneum*herbst (Coleoptera: Curculionidae) et *Tribolium Castaneum*herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) Dans les stocks de riz par la technique d'étuvage Traditionnelle pratiquée en Basse-Guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales.

**17. Cronquist A., (1981).** An integrated system of classification of flowering plants. columbia univ-press. New York. 1262p.

### -D-

**18. Delaveau, P., (1974).** Plantes agressives et poisons végétaux. Copyright Horizons de France.

**19. Duchadeau G., Florkin. (1959).** fortreahalosemie of insects and its signification arch. Insect. physiol. biochimie 67 : 306-314.

### -F-

**20. Fournier, P., (1948).** Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France: 15000 espèces. Tome III.

### -G-

**21. Garnier, G., Beauquesne L.B. & Bebraux G., (1961)** .Ressources médicinales de la flore française. Tome II, Edit. VigotFrère, 23 rue de l'école-de-médecine, Paris VIe.

**22. Goldsworthy G.J., Mordue W., and Guthkelch J. (1972).** studies on insect adipokineties hormones. Gen. comp. Endocrinol 18 (3) : 545.

**23. Govindarajan M., Sivakumar R., Rajeswary M., Yogalakshmi K. (2013).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*. **134**: (7-11).

**24. Gregor D.J., Gummer W.D. (1989).** Evidence of atmospheric transport and deposition of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Canadian arctic snow. *Environmental Science and technology*. 23 : (561-565).

### -H-

**25. Hellal Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire en vue d'obtention du diplôme de Magister en Biologie Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU (Algerie). p : 79.

### -K-

**26. Keita S.M., Vincent Ch., Schmit, J.P., Arnason J.Th., Belanger A. (2001).** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae] Elsevier. 37: (339–349). DOI: S 0 0 2 2 - 4 7 4 X (0 0) 0 0 0 3.

**27. Kéïta SM, Vicent C, Schmit J-P, Bélanger A. (1999).** Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea In: *Flavour Fragr. J.*, 4: 228-230.

**28. Khaddar Ch. (2009).** Etude du comportement de quelques variétés de basilic (*Ocimum basilicum* L.) dans les conditions sahariennes (Cas de Hassi Ben Abdellah-Ouargla). Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie Saharienne. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA, (Algérie). p : 66.

**29. Koba K, Poutouli PW, Raynaud C, Chaumont J-P, Sanda K. (2009).** Chemical Composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo. Bangladesh. In : *J. Pharmacol.*, 4: 1-8.

**30. Koudjéga K., (2004).** Développement de stratégie de gestion intégrée de la fertilité des sols pour le basilic (*ocimum basilicum*) sur les exploitations de Darégal équatorial. Mémoire d'ingénieur agronome, IFDC Afrique /ESA-UL, 96P.

**31. Kumar R., Hwang J.Sh. (2006).** Larvicidal Efficiency of Aquatic Predators: A Perspective for Mosquito Biocontrol. *Zoological Studies*. **45, 4:** (447-466).

### -M-

**32. Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B. &Soltani, N. (2008).** Effet du *Neriumoleander*, laurier-rose, (Apocynacées) sur le taux des protéines, l'activité de l'AchE et les mouvements des vers blancs rhizotrogini, (Coleoptera : Scarabaeidae). *Science et technologie.*, **27** : 73 -.

**33. Mamadou B. (2010).** Utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) dans le cadre du contrôle des vecteurs du paludisme en milieu rural de Banambani et de N'Gbakoro droit au MALI. Thèse de Pharmacie, Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat), Université de Bamako (Mali). p : 89.

**34. Mondello .L, Zappia. G, Cotroneo. A, Bonaccorsi .I, Chowdhury. JU, Yusuf. M, Dugo. G. (2002).** Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. Green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type. *Flavour Fragr. J.*, **17**: 335–340.

**35. Moudachirou M, Yayi E. (1999).** Chemical features of some essential oils of *Ocimum Basilicum* L. from Benin. In : *J. Essent. Oil Res.*, **11**: 779-782.

### -N-

**36. Nakakita H., Winks R.G. (1981).** Phosphine resistance in immature stages of a laboratory selected strain of *Tribolium castanum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* **17**: (43-52).

**37. Nowosielski, J.W. & Patton, R. L. (1965).** Variation in the hameolymph protein, amino acid, and lipid levels in adult house crickets, *Achetadomesticus* L., of different ages. *J. InsectPhysiol.*, 11: 263 - 270.

**38. Ntonga P. A., Belong Ph., Tchoumboungang F., Bakwo E. M., Fankem H. (2012).** Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'*Ocimum canum* Sims et d'*Ocimum basilicum* L. sur les adultes d'*Anopheles funestus* ss, vecteur du paludisme au Cameroun.*Journal of Applied Biosciences.*59 :(4340-4348).

### -O-

**39. Ozcan, M. Chalchat, J-C.(2002).** Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech J. Food Sci.*, 20: 223–228.

### -P-

**40. Papachristos. DP, Stamopoulos. DC. (2002).** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). In : *Journal of Stored Products Research* 38 (2), 117-128.

**41. Philogène B.J.R. (2005).** Effets non intentionnels des pesticides organiques de synthèse: impact sur les écosystèmes et la faune. Dans : enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement; (eds. Regnault-Roger, C., Fabres, G., Philogène, B.J.R.). Edition TEC et DOC. Paris. p : (171-187).

**42. Politeo O., Jukic M., Milos M. (2006).** Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Elsevier.* 101: (379–385). DOI : 10.1016/j.foodchem.. 01.045.

### -R-

**43. Regnault-Roger C, Hamraoui A. (1995).** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a

Bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Stored Products Research*. 31: (291-299).

**44. Rouibi, A. (2002).** Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattellagermanice* (Dictyoptera : Blattellidae) : Aspects morphométriques et Biochimiques. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister Université de Badji Mokhtar- Annaba-. pp 14-95.

### -S-

**45. Senthil, N. (2007).** The use of *Eucalyptus tereticornis* SM. (Myrtaceae) oil (leaf extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* liston (Diptera : culicidae ). *Bioresource Technology.*, 89(9) : 1856-1860.

**46. 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 *Blattellagermanica* (Dictyoptera : Blattellidae). Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister Université de Annaba. 64 pages.

**47. Smagghe, G., Vinuela, E., Van-Limbergen, H., Budia, F. & Tirry, L. (1999).** Nonsteroidal moulting hormone agonists: Effects on protein synthesis and cuticule formation in Colorado beetle larvae. *Entomol. Exp. Appl.*, 93: 1- 8.

**48. Soltani-Mazouni, N., Taïbi, F., Berghiche, H., Smagghe, G. & Soltani, N. (2001).** RH-0345 restored partly the effects induced by KK-42 on reproductive events in mealworms. *Med. Fac. Landbouww., Univ. Gent.*, 66 (2a): 437-444.

### -T-

**49. Taddei, L., (1984).** 1<sup>er</sup> Colloque International des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc, Rabat, pp. 235-238.

**50. Tchoumboungang, F., Dongmo, P. M. J., Sameza, M. L., Mbanjo, E. G. N., Fotso, G. B. T., Zello, P. H. A. & Menut, C. (2009).** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles Et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 13 (1) : 77-84.

**51. Teuscher E., R. Anton & A. Lobstein, (2005).** Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, Paris, 522 p.

**52. Thiery I. Back Ch., Barbazan Ph., Sinégre G. (1996).** Applications *Bacillus thuringiensis* et *B. sphaericus* dans la démoustication et la lutte contre les vecteurs. de maladies tropicales. Elsevier.7, 4 :(247-260).

**53. Tine-Djebbar, F. (2009).** Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation De deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) 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 d'Annaba. 168 p.

-V-

**54. Véronique, Lucette C. (2001).** Toxicité des huiles essentielles. . Pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire, devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse. p : 59.

-W-

**55. Weisberg, S. (1985).** Minitab reference manual. PA States college, Minitab, p232.

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

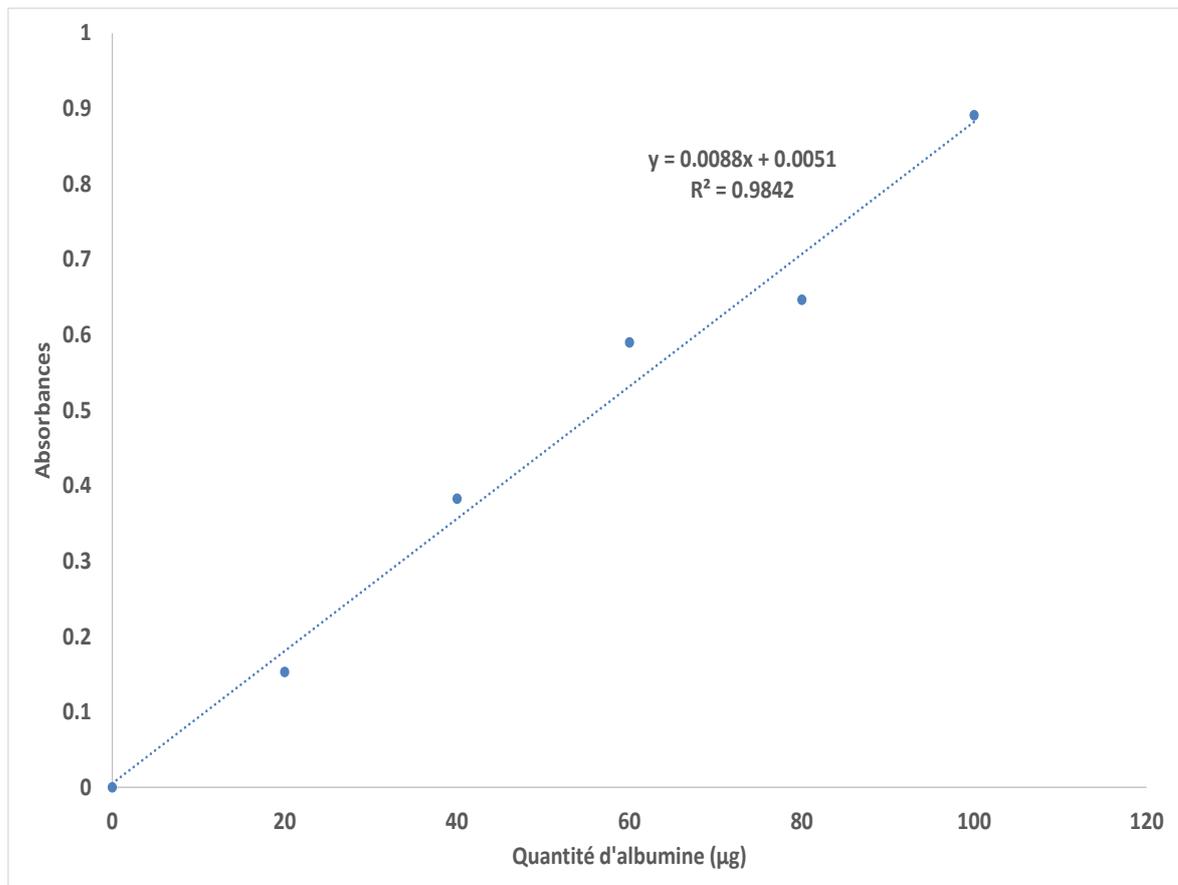
**57. WMO. (1965).** scientific assessment of ozone depletion: World Metrological Organisation global ozone research and monitoring project. Report No. 37, WMO, Geneva, Switzerland.

**58. Wyatt, G. R. (1967).** The biochemistry of insect haemolymph. *A. Rev. Ent.*, 6 :75 – 102.

# Annexes

## Annexe 1: La gamme d'étalonnage des protéines

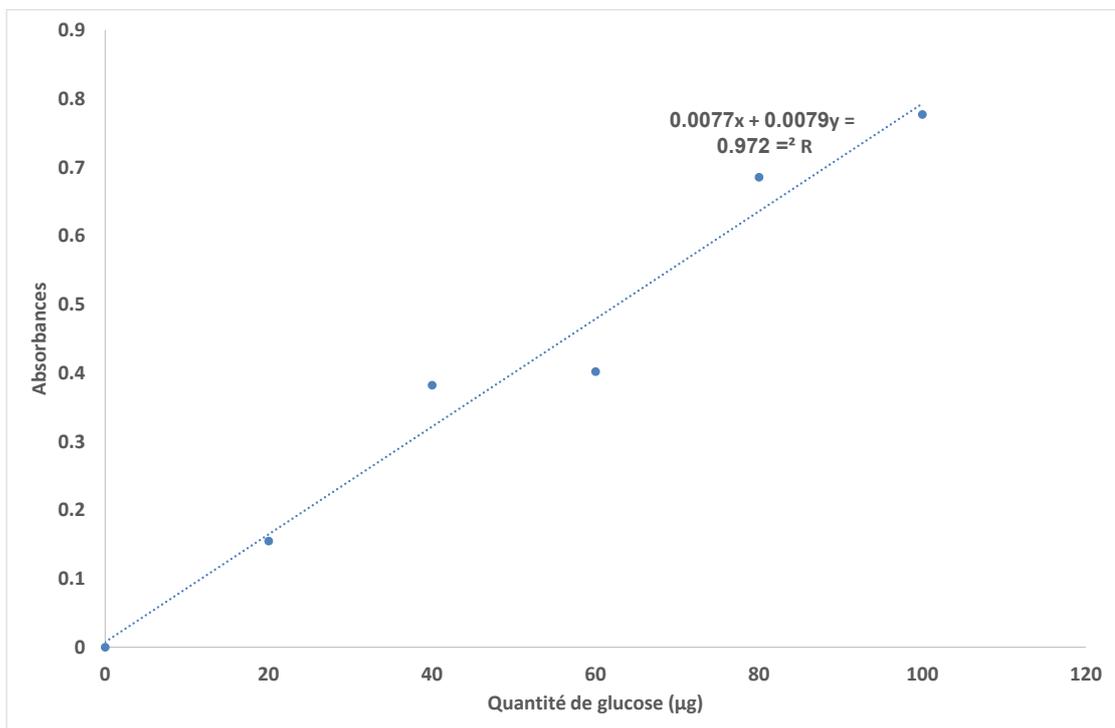
Quantité d'albumine (µg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances	0	0.153	0.3828	0.5899	0.6465	0.8912



## Annexe 2: Courbe des protéines

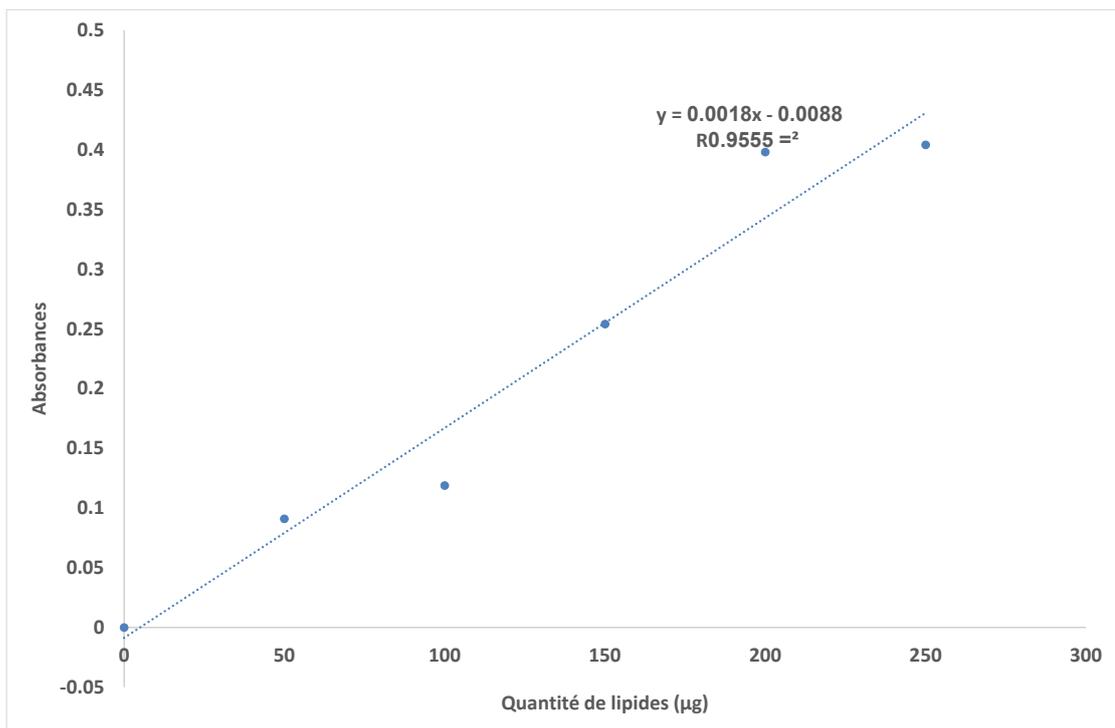
**Annexe 3:** La gamme d'étalonnage des glucides

<b>Quantité de glucose (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>
<b>Absorbances</b>	<b>0</b>	<b>0.1549</b>	<b>0.3823</b>	<b>0.402</b>	<b>0.6855</b>	<b>0.777</b>

**Annexe 4:** Courbe des glucides

**Annexe 5:** La gamme d'étalonnage des lipides

Quantité de lipide (µg)	0	50	100	150	200	250
Absorbances	0	0.0909	0.1188	0.254	0.398	0.404

**Annexe 6:** Courbe des lipides